FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNEE 1965 N°

93

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

GUEGNON Renée, Marcelle

Née le 11 Juin 1936 à Viroflay (S.&.O.)

Présentée et soutenue publiquement le

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES RHINOVIRUS

Président : Monsieur le Professeur Robert FASQUELLE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534924_0028

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNEE 1965 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

GUEGNON Renée, Marcelle

Née le 11 Juin 1936 à Viroflay (S.&.O.)

Présentée et soutenue publiquement le

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES RHINOVIRUS

Président : Monsieur le Professeur Robert FASQUELLE

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

A MES PARENTS

A MA SOEUR

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. FASQUELLE

qui a bien voulu nous faire l'honneur

de présider cette thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de

nos respectueux sentiments.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE P. TOURNIER

qui nous a inspiré le sujet de cette thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A MES MAITRES D'EXTERNAT

Monsieur le Docteur LABAYLE

Monsieur le Professeur LELONG

Monsieur le Professeur BASTIN

Monsieur le Docteur BOLGERT

Monsieur le Professeur E. BERNARD

Monsieur le Docteur BENOIST

Monsieur le Professeur Agrégé CHASSAGNE

Au souvenir de Monsieur le Docteur R. BERNARD

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. ALAJOUANINE (T.), AUBIN (A.), BENARD (H.), BINET (L.), BULLIARD (H.), CADENAT (F.), CATHALA (J.), CHABROL (E.), CHAILLEY-BERT (P.), DEBRE (R.), FEY (B.), GALLIARD (H.), GAUDART d'ALLAINES (F. de), GENNES (L. de), HALPHEN (E.) HAZARD (R.), HEUYER (G.), LAROCHE (G.), LAVIER (G.), LELONG (M.), LEVY-SOLAL (E.) LIAN (C.), MATHIEU (P.), MONOD (R.), MOREAU (R.), MOULONGUET (P.), MOUQUIN (M.), OLIVIER (E.), PASTEUR VALLERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS (D.), PIEDELIEVRE (R.), QUENU (J.), RICHET (C.), SENEQUE (J.), STRCHL (A.), TANON (L.), VERNE (J.).

DOYEN ..... Gaston CORDIER

1er ASSESSEUR ..... Daniel BARGETON

2ème ASSESSEUR ..... Paul CASTAIGNE

I.- PROFESSEURS

1°) CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
Biochimie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
- -	DOGNON (A.)
- -	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Gérontologie expérimentale	N.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	JOANNON (P.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER(J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pathologie exotique	N.
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
- -	BRICAIRE (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	DEPARIS (M.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
-	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)

MM.

Radiologie médicale ..... DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale ..... CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique ..... CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée ..... LAMOTTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie anthropologique ..... OLIVIER (G.)
Biochimie médicale ..... DESGREZ (P.)
POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale ..... BOURLIERE (F.)
Pharmacologie ..... LEVY (Melle J.)
Physiologie ..... DEJOURS (P.)
Physique médicale ..... KELLERSHOHN (L.)
GOUGEROT (L.)
Radiologie médicale ..... FISCHGOLD (H.)

2°) CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

Clinique carcinologique chirurgicale (Necker) ..... REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)..... SOULIE (P.)
Cliniques chirurgicales.. (Beaujon ..... LORTAT-JACOB (J.-L.)
(Cochin ..... LEGER (L.)
(Hôtel-Dieu ..... PATEL (J.)
(Pitié ..... CORDIER (G.)
(Saint-Antoine ..... GOSSET (J.)
(Salpêtrière ..... SICARD (A.)
(Tenon ..... OLIVIER (Cl.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades) ..... FEVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin) ..... MERLE d'AUBIGNE (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais) ..... DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec) ..... MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié) ..... DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades) ..... LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca) ..... HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (St-Louis) DEGOS (R.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades) ..... TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard) ..... MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Ste Anne) DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker) ..... HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais) ..... MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière) .... CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales .. (Broussais..... MILLIEZ (P.)
(Broussais ..... LENEGRE (J.)
(Cochin ..... BROUET (G.)
(Hôtel-Dieu ..... BARIETY (M.)
(Laribosière ..... SEZE (S. de)
(Pitié ..... DREYFUS (G.)
(Saint-Antoine ..... KOURILSKY (R.)
(Saint-Antoine ..... BOUDIN (G.)

.../...

MM.

Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat) ..... DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)..... MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais) ..... JUSTIN-BESANCON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu) ..... DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié) ..... DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)..... GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales ... (Baudelocque ..... LACOMME (M.)
(Foch (Suresnes) ..... MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal) ..... VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu) ..... RENARD (G.)
- - (Cochin) ..... OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) ..... AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (St Vincent de Paul) N.....
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec) ..... BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière) .... MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin) .... COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière) ..... DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard) ..... ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine) ..... LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique ..... GAULTIER (M.)
Clinique urologique (Cochin) ..... ABOULKER (P.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique .... PADOVANI (P.)
Séméiologie médicale ..... DOMART (A.)
Séméiologie et clinique chirurgicales ..... POILLEUX (F.)
Séméiologie traumatique et orthopédique ..... JUDET (R.)
Clinique urologique (Necker) ..... COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau) ... N.....

b) Professeurs à titre personnel :

Hydrologie et climatologie ..... GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses ..... BASTIN (R.)
Médecine ..... AZERAD (E.)
BOUR (H.)
LAMBLING (A.)
LHERMITTE (F.)
PEQUIGNOT (H.)
PERRAULT (M.)
SIGUIER (F.)
WORMS (R.)
Oto-Rhino-Laryngologie ..... MADURO (R.)
Pneumo-Phtisiologie ..... KREIS (B.)
Rhumatologie ..... DELBARRE (F.)

.../...

II.- PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGREGES ET MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES

	MM.
Anatomie	(CABROL (C.) (COUINAUD (C.) (GILLOT (C.) (HUREAU (J.)
Anatomie pathologique	(GAUTHIER-VILLARD (Melle P. pr. s. ch. (ABELANET (R.) (CHOMETTE (G.) (GOUYGOU (Ch.) pr.s.ch. (NEZELOFF (Ch.) (ORCEL (L.) (PAILLAS (J.)
Anesthésiologie	(N. du BOUCHET (Mme) (KERN (E.) (VOURC'H (G.)
Bactériologie	(BARBIER (P.) (pr. s. ch. (CHRISTOL (D.) (DAGUET (G.) (LE MINOR (L.) (TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	(BAULIEU Et. m.conf. (BOURILLON (R.) (CARTIER (P.) (pr.s.ch. (CORNILLOT (P.) (DREYFUS (J.-Cl.) (GONNARD (P.) (JEROME (H.) (KRUH (J.) (LEGRAND (J.-Cl.) (NORDMANN (J.)
Biologie appliquée à l'Education Physique et aux Sports	PLAS (F.)
Biologie médicale	(BENHAMOU (J-P.) (BOIVIN (P.) (HARTMANN (L.) (pr.s.ch.

	MM.
Carcinologie	(BOIRON (M.) (DENOIX (P.) (MATHE (G.) (SELIGMANN (M.)
Cardiologie	HATT (P.-Y.)
Dermato-Syphiligraphie	(CIVATTE (J.) (DUPERRAT (B.) (HEWITT (J.) (TOURAINE (R.)
Electro-Radiologie	(HEITZ (F.) m.conf. (LEDOUX-LEBARD (G.)
Embryologie	ROUX (Ch.)
Hématologie	(BESSIS (M.) (BILSKI-PASQUIER (G.) (DAUSSET (J.) (DUHAMEL (G.)
Histologie	(COUJARD (R.) pr.s.ch. (DA LAGE (MAROIS (M.) (RACADOT (J.) (SCHRAMM (B.)
Hydrologie	(BESANCON (F.) (CORNET (A.)
Hygiène	(BLANCHER (G.) (CORRE-HURST (Mme L.) (ROUSSEL (A.) (SAPIN-JALOUSTRE (H.)
Maladies infectieuses	(DUPONT (V.) (LISSAC (J.) (RAPIN (M.)
Maladies métaboliques	(ANTOINE (B.) (ROSNIER (J.) (RICHET (G.) (SEBAOUN (J.)
Médecine légale	(BOURGUIGNON (A.) (FOURNIER (E.) (GUENIOT (M.) (HADENGUE (A.)

MM.

Médecine du travail..ALBAHARY (C.)

Neuro-chirurgie .....PERTUISET (B.)

Neuro-Psychiatrie .....
- CAMBIER (J.)
- CATHALA (H.)
- ESCOUROLLE (R.)
- GAUTIER (J-Cl.)
- LAPRESLE (J.)
- LEREBOULLET (J.)
- PICHOT (P.)
- TARDIEU (G.)

Obstétrique .....
- GRANJON (A.)
- HERVET (E.)
- LE LORIER (G.)
- LEVY (J.)
- LEWIN (D.)
- MOSSET (R.)
- ROBEY (M.)
- SENEZE (J.)
- SUREAU (C.)
- TCHOBROUTSKY (MmeC.)
- THOYER-ROZAT (J.)

Ophtalmologie .....
- AUVERT (Mme B.)
- BREGEAT (P.)
- DUBOIS (A.)
- FONTAINE (Mme M.)
- SARAUX (H.)

Orthopédie .....
- DUPARC (J.)
- MAURER (P.)
- MEARY (R.)
- POSTEL (M.)
- RAMADIER (J.)

Oto-Rhino-Laryngologie .....
- DEBAIN (J.)
- HIALOUX (P.)
- SERGENT (H.)

Parasitologie .....
- GOLVAN (Y.)
- HO THI SANG (Melle)
- LAPIERRE (J.)

Pathologie chirurgicale .....
- BARCAT (J.)
- BINET (J-P.)
- BLONDEAU (Ph.)
- CERBONNET (G.)
- CHATELIN (C-L.)
- DAUTRY (P.)
- DEMIRLEAU
- DUBOST (Cl.)
- FAUREL (J.)
- FLABEAU (F.)
- GALEY (J-J.)
- GARBAY (M.)
- GARNIER (H.)
- GAUDART d'ALLAINES (Cl. de)
- GERMAIN (A.)
- LATASTE (J.)
- LOYGUE (J.)
- MAILLARD (J-N.)
- MERCADIER (M.)
- NATALI (J.)
- PELLERIN (D.)
- PERROTIN (J.)
- PREMONT (M.)
- ROBERT (H.)
- THOMERET (G.)
- VAYSSE (J.)

Pathologie exotique
- SCHNEIDER (J.)

Pathologie expérimentale .....
- BERTHAUX (P.)
- COTTENOT (Fr.)
- LOEPER (J.) Pr.s.ch.
- MAURICE (J.)
- MIKOL (Cl.)
- PAUPE (J-R.)

Pathologie médicale .....
- ACAR (J.)
- AUQUIER (L.)
- AUSSANNAIRE (M.)
- BEAUMONT (J-L.)
- BERNIER (J-J.)
- BOUVIER (J.)
- BOUVRAIN (Y.)
- BRISSAUD (H.)
- BROCARD (H.)
- BUGE (A.)
- CANIVET (J.)
- CARLOTTI (J.)
- CATINAT (J.)
- CHRETIEN (J.)
- CLOAREC (M.)
- COBLENTZ (B.)

/

../..

	MM.
Pathologie médicale (suite)	CONTAMIN (F.)
	COURY (C.)
	DEBRAY (J.)
	ETIENNE (J-P.)
	FREZAL (J.)
	FRITEL (D.)
	FUNCK-BRENTANO (J-L.)
	GRIVAUX (M.)
	HAZARD (J.)
	HENNEQUET (A.)
	HIMBERT (J.)
	HOUSSET (E.)
	LAGRUE (G.)
	LESOBRE (R.)
	LEVEQUE (B.)
	MACREZ (C.)
	MOREAU (L.)
	NENNA (A.)
	NICK (J.)
	POULET (J.)
	ROYER (P.)
	TCHERDAKOFF (Ph.)
	THIBAUT (Ph.)
	TOURNEUR (R.)
	WILLIAUMEY (J.)
	WOLFROMM (R.)
Pédiatrie-Puériculture	ALAGILLE (D.)
	ALISON (J.)
	CANLORBE (P.)
	GORIN (R.)
	LAFOURCADE (J.)
	LEPERCQ (G.)
	LESTRADET (H.)
	MALLET (R.)
	MANDE (R.)
	MINKOWSKY (A.)
	MOZZICONACCI (P.)
	POLONOVSKI (C.)
	REY (J.)
	RIBIERRE (M.)
	ROSSIER (A.)
	VIALATTE (J.)
Pharmacologie	BOISSIER (J.)
	LECHAT (P.)

	MM.
Physiologie	BARRES (G.)
	DURAND (J.)
	GIRARD (Fr.) m.conf.
	HUGELIN (A.)
	LAURENT (D.)
	SCHERRER (J.)
	pr.s.ch.
	VASSEUR (B.)
Physique médicale	CHANTEUR (J.)
	COURSAGET (J.)
	GREMY (F.) m.conf.
	MILHAUD (G.)
	PAGES (J-Cl.)
	PELLERIN (P.)
	ROUCAYROL (J-C.)
	pr.s.
	TUBIANA (M.) m.conf.
Pneumo-phtisiologie	DECROIX (G.)
	ISRAEL (L.)
	MEYER (A.)
	RENAULT (P.)
	SORS (Ch.)
Psychiatrie infantile	DENIKER (P.)
	DUCHE (D.)
	FLAVIGNY (H.)
Radiologie médicale	DUBOST (J.)
	LEFEBVRE (J.)
	MICHEL (J-R.)
Rhumatologie	MASSIAS (P.)
Stomatologie	CAUHEPE (J.)
	CERNEA (P.)
	CHAPUT (Mme A.)
	m.c.agr.
	CREPY (Cl.)
	FLEURY (R.)
	GRELLET (M.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)
	FOUET (P.)
	LABET (R.)
	MARCHE (J.)
Urologie	AUVERT (J.)
	MOULONGUET (A.)
	QUENU (L.)

../..

III.- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE
à titre permanent.

	MM.		MM.
Anatomie	DEBEYRE (J.)	Clinique ophtalmologique ..	DESVIGNES (P.)
Clinique chirurgicale..	VERNE (J-M.)	Clinique pédiatrique et puériculture	LAPLANE (R.)
Clinique médicale	(RAMBERT (P.) (THIEFFRY (S.)	Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
Clinique obstétricale..	(GRASSET (J.) (MAYER (M.) (MORIN (P.)	Clinique urologique	KUSS (R.)

IV.- PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Bactériologie ..... HAUDUROY (P.) Pr.s.ch.

Pathologie chirurgicale ..... RUDLER (J.) Pr.s.ch.

V.- CHARGES DE COURS D'HYGIENE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE { BOUTANSKI (E.) / LAUNAY (C.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseiller administratif	Melle CHAINTREUIL (G.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine...	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Melles DUMAITRE (P.), LE NOIR (G.) QUIEVREUX (E.)
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.) Melle LAURENT (H.) Dr SCHILLER (J.)

* *

*

TABLE DES MATIERES

	Page.
INTRODUCTION	1
I.- DEFINITION	3
II.- HISTORIQUE	4
III.- CLINIQUE	7
IV.- MODES DE PRELEVEMENT	9
V.- CULTURE DES RHINOVIRUS	12
A.- Animaux	12
B.- Oeuf embryonné	18
C.- Culture de tissu	18
- Généralités	18
- Rhinovirus	21
. Cultures employées	21
. Mode de lecture	25
1°) en microscopie ordinaire	25
2°) Technique des microplages	31
3°) Technique des plages sous agar	31
VI.- MORPHOLOGIE	33
VII.- PROPRIETES	37
- Résistance	37
- Stabilisation par CL_2Mg.	38
- Résistance à l'éther	39
- Acidolabilité	39
- Sensibilité à la 2 (α- hydroxybenzol)benzimidazole	42
- Action de la Trypsine	42

TABLE DES MATIERES (suite)

Page

VIII.- ETUDE ANTIGENIQUE 45

- Antigène fixant le complément 45

- Antigène hémagglutinant 45

- Réaction de neutralisation 45

1°) ordinaire 46

2°) test de réduction des microplages 48

3°) résultats 49

a) sérum d'animaux 49

b) sérum de convalescents 52

IX.- PHENOMENE D'INTERFERENCE 53

X.- EPIDEMIOLOGIE 55

XI.- DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL 57

XII.- ANATOMIE PATHOLOGIQUE 58

XIII.- TRAITEMENT 58

CONCLUSIONS 61

BIBLIOGRAPHIE 64

* *

*

I N T R O D U C T I O N

Le rhume de cerveau n'a jamais été considéré comme une maladie maligne. Mais sa fréquence crée de sérieuses perturbations, tant pour le malade lui-même que sur le plan économique et social, du fait du nombre d'arrêts de travail qu'il entraîne.

A notre connaissance, peu de travaux jusqu'à ce jour ont été faits en France à ce sujet.

Il nous a donc paru intéressant de faire la synthèse des données publiées par les auteurs Anglais et Américains au cours de ces quinze dernières années.

Cette mise au point sur les Rhinovirus pourrait éventuellement servir de base à d'autres recherches de cet ordre.

Nous verrons successivement les faits qui ont amené à la découverte de l'effet cytopathogène des Rhinovirus en culture de tissu, leur identification, et l'étude de leurs propriétés.

oo/oo

Comparables aux Entérovirus par leur taille, leur constitution chimique et leur résistance à l'éther, les Rhinovirus s'en distinguent cependant par leurs caractères propres, tels que leur origine strictement rhinopharyngée, leur culture dans des conditions précises, et leur acidolabilité.

Ils sont loin d'être classés du fait de leur isolement récent et de leur grand nombre.

Malgré les grands progrès réalisés depuis leur découverte, il semble qu'il nous faudra attendre quelque temps encore la mise au point du traitement spécifique du rhume de cerveau.

* *

*

I.- DEFINITION

Les Rhinovirus sont à l'origine de syndrômes respiratoires bénins.

Par certains de leurs caractères, ils se distinguent des autres virus, tels que les parainfluenzae, le virus de la grippe ou le virus respiratoire syncitial, donnant les mêmes syndrômes ; ils entrent dans la famille des Picornavirus.

A l'intérieur de cette famille, cependant, ils forment un groupe bien particulier du fait de leurs caractères culturaux, et de leurs propriétés physicochimiques.

Récemment isolés dans des laboratoires différents, ils ont été appelés par les auteurs qui les ont décrits : Coryzavirus (12), souches Salisbury (57), Entéroviruslike (22), E.R.C. Virus (25), Murivirus (30), et enfin Rhinovirus (1).

Cette dernière dénomination, proposée par [illegible], est actuellement utilisée.

* *

*

II.- HISTORIQUE

Si le rhume de cerveau est connu depuis fort longtemps, l'agent causal n'a été mis en évidence que tout récemment.

L'absence d'une flore bactérienne vraiment précise dans les sécrétions nasales des sujets enrhumés, avait fait écarter depuis longtemps l'hypothèse d'une étiologie bactérienne.

Dès 1914, KRUSE et FOSTER soupçonnent une origine virale. Ce n'est que quinze ans plus tard environ, que DOCHEZ et ses collaborateurs le prouvent : ils inoculent à la fois à des chimpanzés et à des humains volontaires des filtrats rhinopharyngés provenant de malades et obtiennent ainsi la maladie(9).

Puis les recherches s'arrêtent pendant un moment.

Il a fallu la grande fréquence des rhumes de cerveau, avec les arrêts de travail comme conséquence directe, pour qu'une Commission de Recherches soit créée en Angleterre et que la poursuite des travaux reprenne.

Une période de plusieurs années s'écoule avant d'enregistrer un résultat positif. Ce n'est qu'en 1950 que les chercheurs réussirent à cultiver un virus sur un tissu d'embryon humain, à partir du lavage nasopharyngé d'un sujet enrhumé. Malheureusement, ils ne purent cultiver ce virus D.C. au-delà du dizième passage.

Encouragés par ce succès, ces chercheurs essaient alors de modifier les conditions techniques en utilisant des tissus différents (muqueuse nasale d'adulte, poumon d'embryon humain) et des tubes roulants.

../..

En 1952, deux prélèvements sur 74 sont positifs et, mieux encore, en 1953, 13 virus sont isolés de 130 prélèvements. Et il s'agit bien de l'agent du rhume de cerveau, car ces tissus de culture inoculés à des volontaires reproduisent la maladie.

Par ailleurs, en 1956, aux Etats-Unis, PRICE d'une part (41) et PELON d'autre part (36), en travaillant séparément, isolent eux aussi un virus dans les lavages rhinopharyngés de jeunes malades suivis pour grippe, en culture de tissu (rein de singe Rhésus). Ils notent la présence d'un effet cytopathogène du type de celui des Entérovirus, mais lent à apparaître. Sérologiquement distincts de tous les Entérovirus connus à l'époque : il s'agissait du virus JH de PRICE, 2060 de PELON. La preuve ayant été faite de leur identité sérologique, ils reçurent par la suite la dénomination d'Echo 28. (34)

En fait, ce fut les premiers Rhinovirus isolés.

Après avoir réussi à isoler l'agent du rhume de cerveau et à prouver son action par inoculation à des sujets volontaires, les chercheurs Anglais arrivent à mettre en évidence un phénomène d'interférence entre ce virus et certains virus hémagglutinants, tels que le virus Echo 11. Résultat satisfaisant si l'on considère qu'ils obtinrent ainsi une manifestation visible de la présence du Rhinovirus dans les produits pathologiques par une réaction de laboratoire.

C'est en 1960 que fut obtenu le succès total à l'occasion du renouvellement du stock de certains lots de milieu de culture, devenus toxiques. Les chercheurs constatèrent alors un effet cytopathogène caractéristique dans les cultures de tissus ensemencés par des sécrétions nasales virulentes.

../..

../..

Ils concentrèrent dès lors leurs efforts sur la recherche de cette relation de cause à effet en vue de codifier les conditions de culture de ces virus. Ils conclurent que c'est grâce à la faible teneur en bicarbonate du milieu que ce succès fut obtenu.

Si on ajoute à cette notion celle que l'effet cytopathogène apparaît plus vite ou est plus intense quand les tubes de culture sont disposés sur un tambour roulant et à 33° C, on connaît les principaux caractères culturaux des Rhinovirus.

Ceci a permis aux premiers auteurs de cultiver les Rhinovirus, de préciser leurs propriétés et d'entreprendre des études sérologiques, bien loin d'être terminées.

Depuis, de nombreux auteurs tels que HOBSON et SCHILD (16), TYRRELL et BYNOE (58), HAMRE et PROCKNOW (11) MOGABGAB (29), JOHNSON et coll. (23), ont isolé des virus présentant les mêmes caractères et dans les mêmes conditions.

Actuellement, il reste à accomplir un grand travail de classification de ces virus, déjà amorcé en ce sens qu'on a observé que certains d'entre eux poussent en culture d'origine animale et d'autres en culture d'origine humaine. Dans une première classification, approximative, on peut donc les différencier en souche M. ou souche H. (55) (57).

* *

*

III.- C L I N I Q U E

L'incubation est généralement silencieuse et dure 2 ou 3 jours.

La période d'invasion, rapide, se caractérise par un léger malaise général.

La phase d'état se manifeste avant tout par des signes rhino-pharyngés : obstruction nasale, rhinorrhée, plus ou moins abondante, éternuements, légère dysphagie. Le malade tousse, présente parfois quelques frissons, des sueurs, de la céphalée, des myalgies réellement peu marquées.

L'examen clinique ne révèle guère qu'une rougeur du rhino-pharynx peu intense et parfois une injection des conjonctives.

Les signes digestifs sont rares, quelquefois on note une anorexie, quelquefois des vomissements, ou une diarrhée.

Toute cette symptômatologie, discrète, est dans la plus grande majorité des cas peu fébrile, au plus 37°5. Quoiqu'il en soit, en 5 à 6 jours tout est rentré dans l'ordre.

Les examens complémentaires, parfois pratiqués au début de la maladie, montrent une numération sanguine pratiquement normale (42) ou peu modifiée (45) : une légère polynucléose (6100 à 13000), 64 % de neutrophiles, une diminution des lymphocytes, et une vitesse de sédimentation accélérée. (5)

../..

Bien entendu, il existe des formes cliniques :

- forme de surinfection par une bactérie, se traduisant par une fièvre plus importante et par une durée plus longue de la maladie. On peut alors parfois constater sur les radiographies pulmonaires une accentuation des images bronchiques ;

- la forme de l'enfant est voisine de celle de l'adulte; cependant, on note fréquemment une température plus élevée et des signes de bronchite, voire de bronchopneumonie.

* *

*

IV.- MODES DE PRELEVEMENT

Les techniques de prélèvement varient suivant les auteurs, mais toutes tendent à obtenir des sécrétions rhino-pharyngées.

En effet, le virus se localise à la partie haute du système respiratoire. Il est tout-à-fait exceptionnel de le retrouver dans les foèces.

1.- On a utilisé le prélèvement au niveau du nez ou de la gorge au moyen d'écouvillons secs, soigneusement exprimés dans 6 à 10 ml. de milieu contenant des antibiotiques.

Les milieux sont composés de solutions physiologiques telles que Phosphate Buffered Saline (P.B.S.) ou Hanks, ou un milieu plus riche, 199, du bouillon de veau ou de coeur de bœuf, auxquels on ajoute de l'hydrolysat de lactalbumine, ou de la gélatine à la dose de 0,5 %. (12 - 3 - 38 - 11 - 46 - 52 - 23 - 32).

2.- D'autres auteurs emploient 10 ml. des milieux déjà cités en gargarismes (3 - 52 - 38).

3.- Le lavage nez-gorge semble être à la base d'isolements plus nombreux.

La technique en est simple : elle consiste à instiller 3 à 5 ml. de milieu dans chaque narine du malade (généralement il s'agit de bouillon contenant 0,5 % d'albumine de boeuf et des antibiotiques) (1.000 Unités de pénicilline, 1.000 γ de streptomycine par ml.) (42).

../..

../.. la tête penchée en arrière, la langue élevée et la glotte close. Ayant demandé au sujet de pencher la tête en avant, on recueille le liquide dans une boîte de Pétri stérile, par exemple (24). Parfois le malade se gargarisant avec le milieu instilé dans les narines, le rejette dans une boîte stérile (31).

Les résultats semblent varier suivant les auteurs. Certains obtiennent plus de prélèvements positifs par écouvillonnage du nez ou de la gorge que par lavages nez-gorge : 19 % pour 10 % (38). D'autres, (4) (5) au contraire, pensent que le lavage de gorge donne des résultats supérieurs. Lors d'une expérimentation chez des volontaires, pour 82 spécimens testés, les auteurs (5) ont obtenu :

76 % de prélèvements positifs par cette technique pour seulement :

36 % par écouvillonnage de nez,

35 % par écouvillonnage de gorge,

50 % par écouvillonnage de nez et gorge combinés.

Ces prélèvements effectués sont soit inoculés immédiatement dans les cultures de tissu appropriées, et cela est préférable pour certains (3), soit, le plus souvent, répartis en petits flacons ou en ampoules scellées conservés à - 60° ou - 70°.

C'est après décongélation, lente ou rapide, qu'on les inocule à la dose de 0,1 à 0,2 ml. dans des tubes de culture contenant de 1 ml. à 1 ml,5 de milieu.

../..

4.- Il est rare de rechercher le virus dans les selles : on peut, soit recueillir les selles, soit pratiquer un écouvillonnage rectal (fréquemment employé chez l'enfant).

Ces prélèvements sont conservés dans la solution de Hanks contenant des antibiotiques et à - 40° C.

En pratique, le prélèvement doit être effectué dès que possible : quelques expériences menées chez des volontaires ont montré que si le prélèvement est pratiqué dans les 24 premières heures, on obtient 25 % d'isolement ; s'il est pratiqué entre 24 et 48 heures : 26 %, et entre 48 et 56 heures, la proportion tombe à 19 %.

5.- Il ne suffit pas d'isoler le virus pour affirmer la maladie, il faudra mettre en évidence dans le sérum du malade les anticorps correspondants, et une augmentation du taux de ces anticorps, 15 jours à 3 semaines après. On recueillera donc le sang du malade à deux reprises à 15 jours d'intervalle; on le conservera quelques heures à la température du laboratoire, une nuit à + 4° C., et après centrifugation on recueillera le sérum qui sera conservé à - 20° C. ou - 30° C. jusqu'à son utilisation (42).

* *

*

V.- CULTURE DES RHINOVIRUS

La culture des virus comprend habituellement trois étapes ; très souvent c'est l'inoculation qui précède les cultures du virus en laboratoire, où l'on a actuellement à sa disposition l'oeuf embryonné, puis les cultures de tissu.

A./ En ce qui concerne les Rhinovirus, il n'y a guère d'animal sensible.

1.- On a essayé d'inoculer, soit le souriceau nouveau-né en intra-cérébral ou intra-péritonéal, soit la souris adulte en intra-péritonéal : ni l'un, ni l'autre n'ont fait de maladie pendant 21 à 27 jours d'observation.

Semblable résultat avec le cobaye inoculé par voie intra-musculaire, ou le lapin inoculé par voie intradermique ou cornéenne. (23 - 49 - 34)

Ces résultats confirment les expériences pratiquées chez les volontaires : afin d'avoir toutes les garanties de sécurité du produit inoculé, les virus sont inoculés à des animaux avant de l'être à ces sujets. Là encore, ni la souris ni le cobaye n'ont présenté de troubles (31).

2.- Jusqu'à présent, seuls les primates se sont révélés sensibles : le chimpanzé et l'homme.

../..

a) DOCHEZ, en 1930, avait réussi à inoculer des chimpanzés et à reproduire chez eux le rhume de cerveau typique. Mieux encore, il avait réussi à entretenir les souches ainsi obtenues par passage chez cet animal. (9)

PELON, par contre, n'a obtenu aucune maladie chez les singes Rhésus inoculés en intra-cérébral (34).

b) Mais la principale preuve de l'existence du virus du rhume de cerveau a été prouvée par l'inoculation expérimentale chez des humains volontaires.

- Tout au début des recherches, c'était là la seule technique valable pour prouver l'existence d'un agent infectieux dans les sécrétions nasales des sujets enrhumés.
- Puis, on a pu ainsi mettre en évidence l'existence d'un virus non visible dans les cultures de tissu en inoculant ces cultures à des volontaires.
- C'est ainsi que le virus D.C. des auteurs Anglais s'est révélé pathogène pour l'homme jusqu'à son 10ème passage en culture.
- Par la suite, d'autres souches Salisbury (H.G.P., - P.K.), isolées de sujets enrhumés et inoculés chez 71 volontaires ont donné des coryzas chez 14 d'entre eux (58).
- Aussitôt qu'ils ont été soupçonnés d'être des Rhinovirus, les virus JH. et 2060 ont été cultivés en culture de tissu et inoculés à des volontaires (19).

On a pu ainsi prouver :

- leur présence chez des sujets enrhumés,
- la reproduction typique du rhume de cerveau chez des volontaires,
- l'apparition des anticorps correspondants et une augmentation du taux de ces anticorps dans le sérum des malades,

../..

../..

- l'apparition d'une immunité après l'inoculation, soit avec JH., soit avec 2060,
- la possibilité de les isoler à nouveau des sécrétions nasales des sujets inoculés,
- le caractère infectieux de ce virus isolé de premiers volontaires, lors de sa ré-inoculation à d'autres volontaires.

Malheureusement ces volontaires n'étant pas isolés, la différence de rhumes constatés chez les sujets inoculés par rapport aux témoins (30 % pour 18 % chez 159 sujets) n'était pas suffisante pour avoir une preuve définitive du rôle de l'Echo 28 dans cette affection.

Au fur et à mesure de l'amélioration des techniques, on a pu isoler de nombreux virus à partir de sécrétions nasales de malades et entreprendre des études poussées de l'inoculation de ces virus, M_4 ou H_3, chez des volontaires.

Ces expériences se déroulent de la façon suivante :

- autant que possible, les sujets sont isolés 3 à 4 jours avant le début de l'expérience et 10 jours après. Ils subissent un examen antérieur et des examens quotidiens dont les conclusions cliniques sont portées sur leur observation;
- C'est seulement après avoir la certitude que le produit devant être inoculé ne contient aucun élément autre que le Rhinovirus étudié, que l'expérience commence.

../..

../..

C'est pourquoi, avant l'expérience proprement dite, on inocule généralement des tissus différents de ceux employés pour isolement des Rhinovirus, tels que des cellules malignes humaines, rein de lapin, et on recherche un pouvoir pathogène éventuel chez des animaux de laboratoire (souris, souriceau, nouveau-né, cobaye, lapin).

Enfin, on ensemence des tubes de thioglycollate pour éliminer les bactéries.

- le produit virulent inoculé est généralement une dilution des tissus de culture, infectés par le Rhinovirus. Les tissus de culture sont centrifugés, filtrés, et répartis en ampoules qui sont stockées à - 60° jusqu'à leur emploi.

On peut identifier le virus avant son utilisation par sa neutralisation par l'antisérum correspondant.

- On inocule les volontaires le plus souvent par voie nasale en instillation ou en pulvérisation de 1 ml. Dans certains cas, on a employé la voie intra-musculaire pour la même dose de 1 ml.

Les résultats sont pratiquement constants :

Après une incubation de 24 heures à 3 jours (variable suivant le virus employé), les volontaires font un rhume typique.

La maladie débute par des signes rhino-pharyngés telles qu'obstruction nasale et légère dysphagie, pour se caractériser à la période d'état par une augmentation notable des sécrétions nasales (mesurée par le nombre de mouchoirs standard utilisés par le malade, qui passe de 5 à 30 le 2ème jour après l'inoculation)[50], l'apparition de la toux et parfois d'un léger malaise, mais la température n'excède guère 38°5.

../..

Il semble d'ailleurs qu'il y ait un certain parallélisme entre la sévérité de la maladie et l'abondance des sécrétions.

Les examens de sang montrent une légère leucocytose avec polynucléose, tandis qu'on enregistre une diminution des lymphocytes. La vitesse de sédimentation est peu élevée. (5)Tout rentre dans l'ordre en 5 jours.

Les études chez les volontaires comportent deux voies parallèles : dans un premier temps, il faut essayer de retrouver le virus chez les sujets inoculés, qu'ils aient ou non présenté des troubles cliniques et prouver ensuite que ce virus est bien en cause, par l'observation de la montée du taux des anticorps dans le sérum.

Après l'inoculation, il sera donc nécessaire de prélever d'une part les sécrétions nasales des sujets (par les mêmes techniques que celles utilisées chez les malades atteints par la maladie naturelle), d'autre part le sang à des intervalles variables.

- Pour certains auteurs, il semble que le mode de prélèvement joue un rôle dans le pourcentage de l'isolement des virus, comme nous l'avons énoncé plus haut au sujet des prélèvements;

- Le virus est généralement isolé pendant les 2 jours suivant l'inoculation, mais on peut le retrouver dans les prélèvements effectués 15 à 20 jours après l'inoculation; on peut le retrouver même chez les sujets apparemment sains;

- Le virus est isolé des sécrétions rhino-pharyngées. Dans un seul cas, on a identifié comme l'agent administré le virus retrouvé dans les selles (en l'occurence N.I.H. 353) (5). Cherchant à reproduire ce fait, certains auteurs ont fait ingérer du Rhinovirus, mais n'ont pu retrouver ce même Rhinovirus chez les volontaires (50).

../..

Le virus, une fois isolé, est à nouveau identifié par une réaction de neutralisation.

- Lorsqu'on compare le taux des anticorps correspondants avant et après l'expérience, on constate une nette augmentation de ce taux suivant les étapes chronologiques : pratiquement nul avant la maladie et au 5ème jour (50), le taux augmente à partir du 15ème jour jusqu'à quatre fois sa valeur. Il s'agit en l'occurence d'anticorps spécifiques (2).

. on a essayé d'inoculer chez des sujets en cours d'expérience le même virus à 4 semaines d'intervalle, et les résultats suivants ont été obtenu :

- les sujets ne font pas de maladie cliniquement visible,
- le virus n'est pas retrouvé dans leurs sécrétions, alors que le taux des anticorps présents dans leur sérum est de 1/10.

. on a également essayé d'inoculer avec un virus donné des sujets présentant naturellement des anticorps neutralisant spécifiquement ce virus au taux de 1/86. Ceci 6 semaines après leur maladie naturelle. On a constaté que ces sujets font un rhume typique tout comme s'ils n'avaient pas d'anticorps.

Ces deux expériences sont en faveur d'un phénomène de résistance sans rapport avec le taux des anticorps circulants.

Après l'étude de la maladie naturelle et celle de la maladie expérimentale, il a été établi qu'on pouvait séparer les souches H. des souches M.

../..

Nous avons vu que les premières expériences ont été conduites avec les virus JH. et 2060 (M.). Par la suite, de nombreux auteurs se sont intéressés aux souches H. et ont prouvé que ces souches produisent le même type de rhume, mais que le taux des anticorps est beaucoup moins important (53), puisqu'on note des taux de 1/16 à 1/32 (5), alors qu'avec l'Echo 28 on obtient une neutralisation jusqu'à une dilution du sérum au 1/128.

Cette même différence a, d'ailleurs, été retrouvée dans le cas des maladies naturelles avec du virus H. et M. (54).

Ces études expérimentales chez l'homme ne présentent pas comme seul intérêt l'isolement du virus, mais encore mettent en évidence le rôle protecteur des anticorps.

B./ Culture sur oeuf embryonné

La culture sur oeuf embryonné fut tentée sans beaucoup de succès : on a décrit un seul cas, non confirmé, que ce soit par ensemencement des liquides ou des membranes de l'oeuf.

C./ Culture de tissu

La culture de tissu, par contre, est entrée dans la pratique courante pour l'isolement des Rhinovirus.

GENERALITES

On sait tous les progrès qu'a fait faire à la Virologie cette technique. Celle-ci s'est, en effet, considérablement améliorée depuis les premiers travaux de CARREL en 1910.

Tout d'abord, DULBECCO a introduit la technique de trypsinisation qui offrait la possibilité d'obtenir des cellules isolées à partir d'organes. En les plaçant à une température choisie et dans un milieu convenable, il a réussi à les faire"survivre" un certain temps.

Enfin, ENDERS en 1949 a aussi été l'instigateur d'un nouvel essor de la virologie en prouvant le premier que le virus de la poliomyélite pouvait "pousser" sur des cellules ainsi préparées.

Les cultures obéissent à un certain nombre de règles. Il nous a paru utile de les exposer très brièvement avant de les traiter dans le cadre plus particulier des Rhinovirus.

1°) Les cellules

Schématiquement : il existe deux sortes de cellules employées en virologie :

a) les cellules proviennent d'un organe prélevé chez l'animal ou l'homme. Cet organe est trypsinisé et les cellules obtenues sont réparties dans les tubes ou flacons qu'on veut utiliser.

Il s'agit de culture de première explantation, ou culture primaire, réalisant une couche monocellulaire de type épithélial ou fibroblastique, selon l'organe d'origine.

Dans certains cas, on peut trypsiniser cette couche de cellules et en obtenir des cellules séparées qu'on pourra cultiver dans les mêmes conditions. On parle alors de culture secondaire. Nous verrons leur intérêt, car elles se révèlent parfois plus sensibles aux virus. On ne peut trypsiniser au-delà sans craindre une dégénérescence des tissus.

../..

b) La deuxième technique de culture consiste en l'entretien de cellules malignes. Après trypsinisation, ces cellules se mettent à proliférer et réaliser une couche monocellulaire. Dans ce cas, les trypsinisations peuvent être répétées à l'infini.

On emploi le plus souvent :

- les cellules KB., provenant d'un cancer du plancher de la bouche,
- les cellules Hela issues d'un carcinome du col utérin, et
- les cellules Hep 2 provenant d'un épithélioma.

c) Depuis quelques années cependant, un troisième type de cellules réalisant comme une synthèse entre les deux premiers a été décrit et utilisé au Wistar Institute à Philadelphie par HAYFLICK et ses collaborateurs (14).

Il s'agit de cellules obtenues à partir d'organes de foetus humains. Ces cellules sont diploïdes, peuvent passer en culture de 40 à 50 fois avant de présenter des signes de dégénérescence : ce sont des cellules diploïdes.

2°) Les milieux

Suivant le stade de multiplication des cellules, on emploie des milieux de croissance ou des milieux de survie.

D'une façon générale, les premiers sont plus riches en facteurs de croissance que les seconds, mais moins alcalins, car les cellules sont peu nombreuses au début et trop de bicarbonate pourrait leur être toxique.

Quoiqu'il en soit, les premiers comme les seconds sont composés d'une solution physiologique, d'un milieu de base contenant les éléments nutritifs (acides aminés, vitamines), du sérum, du bicarbonate et des antibiotiques.

../..

La solution physiologique peut être soit la solution de Hanks, soit la solution de Earle. Les milieux contenant les éléments indispensables sont généralement le milieu de Eagle, ou 199, ou contenant de l'hydrolysat de lactalbumine.

On emploie le plus souvent du sérum de veau, inactivé par un séjour au bain-marie à 56° pendant 30 minutes. Cependant, on utilise aussi les sérums de cheval ou de poulet, eux aussi inactivés ou non.

La dose employée est plus importante dans les milieux de croissance que dans les milieux visant à maintenir les cellules en vie. On doit cependant noter que certains types de cellules poussent sans l'addition d'aucun sérum.

Le bicarbonate de soude employé est à dose plus forte dans les milieux de survie.

Les antibiotiques ajoutés sont pratiquement toujours les mêmes : pénicilline 100 U./ml., streptomycine 100 microg./ml., mycostatine 50 U./ml. comme antifungique; parfois amphotéricin B. 1 microg./ml.

Dans le cas des RHINOVIRUS

On emploie des cellules d'origine animale et humaine, ce qui a permis aux auteurs qui les ont étudiés de les diviser en Rhinovirus M. (de l'anglais monkey), et Rhinovirus H. (human) selon qu'ils poussent dans l'un ou l'autre type de culture cellulaire.

1°) Les premiers Rhinovirus isolés l'ont été en culture de rein de singe rhésus, mais depuis on a employé des reins provenant d'autres singes d'Asie (cynomolgus) ou singes africains (cercopithèques : vervet ou african-green). Ils sont utilisés en cultures, soit primaire, soit secondaire.

../..

Les milieux employés varient suivant les auteurs. Ils peuvent se résumer ainsi :

	MILIEUX	SOLUTION PHYSIOLOGIQUE	SERUM	BICARBONATE
Milieux de croissance	MELNICK ou HYDROLYSAT DE LACTALBUMINE 0,5 %	HANKS ou EARLE	2 à 5 % de SERUM DE VEAU	30 à 60 mg. %
Milieux de survie	EAGLE seul EAGLE/ 199 (50 %/ 50 %)	EARLE EARLE/HANKS	2 % Veau ou 2 % Poulet	30 à 60 mg.%

(11 - 10 - 12 - 29 - 25 - 23)

Certains reins de singe sont porteurs de virus latents. C'est pourquoi on emploie pour les neutraliser des sérums anti-virus simiens (appelés sérums anti S.V.). Le virus le plus fréquemment rencontré étant du type 5, certains auteurs ajoutent 0,2 % de sérum anti-S.V. 5, aux milieux employés, parfois même du sérum anti-S.V. 1, 2, 4, 6, 8, 11, 12, 15, 16. (7 - 42).

2°) On a employé de la même façon le rein humain et avec des milieux semblables aux milieux utilisés pour la mise en culture des cellules de reins de singe.

../..

	MILIEUX	SOLUTION PHYSIOLOGIQUE	SERUM	BICARBONATE
Milieux de croissance	HSIUNG 199/EAGLE (10 % 90 %) + HYDROLYSAT DE LACTALBUMINE 0,5 %	EARLE/ HANKS	20 % de SERUM de VEAU	30 mg %
Milieux de survie	Hydrolysat de LACTALBUMINE 0,25 % à 0,5 %	HANKS	2 % de SERUM de VEAU	60 mg %
	HSIUNG 199/EAGLE	EARLE/HANKS	1 % de SERUM de VEAU	30 mg %

(52 - 53 - 10 - 23 - 11)

Ces cellules rénales, qu'elles soient humaines ou simiennes, se présentent comme des cellules arrondies de type épithélial.

3°) Dès l'apparition des cellules diploïdes, on en a fait usage dans les recherches effectuées à propos des Rhinovirus.

Ces cellules sont soit d'origine pulmonaire, soit d'origine rénale, et portent le numéro de leur mise en circulation.

Les plus fréquemment utilisées en matière de Rhinovirus ont été les : W I 10 (rein)

26 (poumon)

38

../..

D'autres auteurs utilisant la technique décrite par HAYFLICK, ont pu mettre en culture des cellules diploïdes d'origine embryonnaire humaine, appelées H E L (en raison de leur provenance d'un poumon d'origine humaine) (7) (53).

Certaines conditions doivent être respectées pour la culture de ces cellules : en particulier le milieu demande un pH aux alentours de 7,3. Par ailleurs, elles poussent avec ou sans sérum. Leur aspect est celui de cellules allongées de type fibroblastique.

Les milieux employés par les différents auteurs peuvent se schématiser ainsi :

	MILIEUX	SOLUTION PHYSIOLOGIQUE	SERUM	BICARBONATE
MILIEUX DE CROISSANCE	EAGLE	EARLE	10 % de SERUM de VEAU	
MILIEUX DE SURVIE	EAGLE BME/199 EAGLE MEM/199 EAGLE SEUL	EARLE/HANKS EARLE	2 % de SERUM de CHEVAL ou de VEAU ou sans SERUM	90 mg. à 140 mg. %

(52 - 3 - 12 - 25 - 53 - 23)

4°) Bien entendu, on a essayé d'isoler ces Rhinovirus en cellules malignes (Kb, Hela, Hep 2). Ces cultures sont d'emploi pratique à cause de leur croissance rapide et leur obtention est aisée.

../..

Les milieux sont les suivants :

	MILIEUX	SOLUTION PHYSIOLOGIQUE	SERUM	BICARBONATE
MILIEUX DE CROISSANCE	EAGLE (MEM)	EARLE	SERUM de POULET 5 CHEVAL à VEAU 10 %	pH 7,7
MILIEUX DE SURVIE	MELNICK		SERUM de VEAU 2 à POULET 5 %	220 mg. % à 240 mg. %

(27 - 23 - 25 - 29 - 12 - 11 - 10)

Ces cellules se présentent comme des cellules de type épithélial, mais certaines anomalies font aisément reconnaître leur origine maligne.

MODES DE LECTURE

Ces différents types de culture présentent des intérêts divers, certains étant la source d'isolement de virus, d'autres permettant seulement leur entretien en vue d'études sérologiques par exemple.

1°) Examen au microscope

La présence du virus dans le produit qu'on inocule se manifeste d'une façon visible par son effet cytopathogène en culture de tissu.

a) Effet cytopathogène.

On sait que c'est la baisse fortuite du taux de bicarbonate dans un milieu de culture qui a permis aux chercheurs anglais de décrire pour la première fois en 1960, l'effet cytopathogène du Rhinovirus en culture de rein humain. (57)

../..

2 à 7 jours après l'inoculation des tubes de culture, on note l'apparition d'une réfringence des cellules qui se détachent sur le fond des cellules non encore atteintes. Puis, leur cytoplasme devient granuleux et elles présentent des expansions cellulaires tout-à-fait caractéristiques, leur donnant l'apparence de cellules nerveuses. Enfin, elles se détachent de la paroi du tube.

Ces lésions apparaissent en foyers qui se répartissent dans toute la couche cellulaire et progressent à partir de ces foyers de façon centrifuge.

Cet aspect a été confirmé à de nombreuses reprises en rein humain (23) (11).

Puis on l'a décrit en rein de singe où il revêt pratiquement le même aspect. Cependant cette fois les lésions partent de la périphérie de la couche cellulaire et gagnent le centre plus ou moins rapidement.

Après la mise en circulation des cellules diploïdes, on a décrit, en W. I. 10 (12) et 26, un effet cytopathogène, là aussi caractéristique :

2 à 5 jours après l'inoculation du virus, les fibroblastes s'arrondissent et deviennent réfringents. Certains d'entre eux augmentent de volume. Ces lésions apparaissent dans toute la couche cellulaire. Enfin, comme dans les cultures précédentes, les cellules se lysent, et seuls persistent quelques débris et des noyaux isolés sur les parois du tube. (23)

Après quelques passages sans résultat en cellules malignes, on a vu apparaître un effet cytopathogène se caractérisant ainsi en HEP.2 (46) ou en cellules K.B. par exemple (23) (29).

../..

Tout d'abord, il apparaît dans la couche cellulaire des foyers de cellules arrondies, de taille à peu près semblable, qui se fusionnent rapidement. A la fin de la mise en culture, les cellules se détachent de la paroi et tombent dans le milieu.

Cet effet cytopathogène a été étudié après coloration des cellules atteintes par le Giemsa (12) ou l'hématoxyline - éosine (34). On a pu noter une rétraction nette du cytoplasme, dont l'acidophilie augmente, le noyau devenant picnotique. Enfin, on voit très nettement la margination de la chromatine.

On n'a pu mettre en évidence d'inclusions nettes.

b) Conditions de culture

Mais cet effet cytopathogène ne peut être démontré que si certaines conditions de culture sont réalisées. Ces conditions décrites par l'équipe de Salisbury ont été confirmées par les travaux de nombreux auteurs (57) (33).

1.- La première est l'utilisation de tubes roulants (17). De nombreux expérimentateurs depuis que PELON et PRICE ont isolé l'Echo 28, ont prouvé par des études comparées que l'incubation en tambour roulant permet d'obtenir une multiplication du virus plus rapide et plus intense. Plus exactement, la progression de l'effet cytopathogène est plus rapide. Les taux du virus sont souvent comparables, qu'il s'agisse de cultures stationnaires ou en tambour. (12 - 42 - 5 - 10 - 23 - 50 - 7).

2.- La température de choix est 33° et non point celle de 36°, employée couramment en virologie pour l'incubation (12) (10).

../..

3.- Bien entendu, et cela a été la cause de la découverte de l'effet cytopathogène des Rhinovirus : la teneur en bicarbonate des milieux joue un rôle important (34). Par exemple, dans le premier cas publié (35), le taux était de 90 mg. au lieu de 160 mg. % de bicarbonate employé habituellement dans les milieux de survie.

Par ailleurs, certains auteurs préfèrent dans le cas de cellules d'explantation les cultures secondaires aux cultures primaires : en particulier les cellules de rein de singe dites secondaires paraissent plus sensibles à l'action des Rhinovirus (28) (57). De même, l'utilisation de ces cellules, alors qu'elles ne réalisent pas encore une nappe continue, paraît augmenter les résultats (23) (27) (17).

L'absence de sérum dans le milieu favorise l'apparition de l'effet cytopathogène (34). Il semble de plus que les résultats obtenus soient aussi fonction de l'embryon utilisé, dans le cas de cellules provenant d'organes d'embryons humains (22) (16).

Le cas est un peu particulier quand on emploie des cellules diploïdes pour l'isolement de ces virus : les conditions de cultures précédemment exposées ne sont pas aussi indispensables à respecter qu'avec les cellules rénales de singe ou d'homme, ou les cellules malignes (22) (16). Cette fois l'absence de sérum ne semble pas augmenter l'effet cytopathogène ou le titre du virus (23).

Nous ne pouvons reporter ici tous les Rhinovirus qui ont été isolés depuis que l'on sait reconnaître leur présence en culture de tissu, car la liste en est fort longue, mais nous pouvons parmi eux réaliser un début de classification.

../..

c) Classification en souche M. ou H.

Si on pratique un isolement de la façon suivante : ensemençant à la fois des tubes de culture de rein de singe et d'autres de rein humain avec des Rhinovirus, et si on respecte les conditions de culture, on observera que tous les Rhinovirus poussent en culture de rein humain, par contre seuls quelques uns d'entre eux poussent en culture de rein de singe. On a pu ainsi distinguer parmi eux les Rhinovirus H. et les Rhinovirus M.

Des études ont été entreprises pour vérifier cette différence de sensibilité des 2 types de Rhinovirus en culture de tissu (51).

Les souches M. :

- peuvent être isolées en culture de rein de singe primaire ou secondaire,
- produisent un effet cypathogène en foie d'embryon humain, en poumon d'embryon humain, en culture de peau humaine et en amnios,
- peuvent être adaptées après plusieurs passages en cellules Hela, Hep 2, et K.b. (41 - 25 - 19 - 29 - 23),
- ne peuvent pousser en rein de lapin.

Les souches H.

- peuvent être isolées en rein d'embryon humain primaire,
- ne peuvent pousser en rein de singe,
- peuvent après plusieurs passages donner un effet cytopathogène en cellules malignes, mais à un degré moindre que les virus M.,
- poussent très bien en cellules diploïdes;

Certains même, jusqu'à ce jour, ne poussent qu'en cellules diploïdes tel le virus D.C. (56).

../..

Mise à part cette différence de sensibilité vis-à-vis des cultures, ces souches M. et H. se différencient par le titre infectieux obtenu en culture : en effet, on peut en diluant le produit virulent de 10 en 10 inoculer chaque dilution dans 2 à 4 tubes de culture.

On observe alors quotidiennement et pendant 3 semaines environ l'apparition d'un effet cytopathogène. On calcule le titre en prenant pour telle la plus grande dilution qui donne un effet cypathogène 8 jours après l'inoculation, ou en appliquant le procédé de REED et MUENCH (44) après lecture des tubes atteints par les différentes dilutions du virus ; on obtient ainsi le titre en dose infectieuse 50, en culture de tissu (TCID.50).

Il semble que le titre obtenu en culture avec des souches H. n'excède guère 10^3 à 10^5 par ml., alors qu'on obtient un titre de 10 à 100 fois supérieur avec les souches M.

Cependant, il semble qu'on puisse atteindre des taux identiques après adaptation de ces souches H. en cellules kb., (22) ou en les isolant en cellules diploïdes (23).

Un troisième caractère les différencie du moins dans l'état actuel de nos connaissances, il semble qu'on isole plus de souches H. que de souches M.

HAMPARIAN et ses collaborateurs ont isolé 20 sérotypes différents parmi lesquels 19 H. et 1 M.

TYRRELL et ses collaborateurs : 6 Rhinovirus, dont 4 H. et 2 M.

HAMRE et PROCKNOW : 31 virus, dont 24 H. et 7 M.

HOBSON et ses collaborateurs ont isolé 7 H. et 1 M.

JOHNSON et ses collaborateurs : 5 souches H.

BLOOM et ses collaborateurs, sur 210 prélèvements positifs ont décrit 110 H. pour 100 M.

../..

PEREIRA et ses collaborateurs : sur 23 souches en comptent 20 H. pour 3 M.

en Suède, les deux seuls Rhinovirus étaient de type M. (27).

2°) La technique des microplages

Cette technique, très employée par les auteurs Anglais (50), consiste à observer au microscope et sous faible grossissement les tubes de culture et à y dénombrer les foyers de dégénérescence ou microplages. La difficulté consiste à pratiquer cette lecture avant l'apparition des foyers de dégénérescence secondaires et ceci est réalisable dans la pratique vers le 2ème ou 3ème jour après l'inoculation. On verra que cette technique est utilisée par ces mêmes auteurs pour juger de la neutralisation d'un virus par un sérum. Le virus est titré en unités-plages (P.F.U.).

3°) Technique des plages sous couche d'agar

Après quelques essais infructueux de PARSONS et TYRRELL (33), de PELON (34), la technique a été mise au point par PORTERFIELD(39), en culture de poumon d'embryon humain.

Elle consiste à inoculer le virus dans la culture voulue (la couche cellulaire étant continue), en boîte de Pétri ou en flaçon. Le virus est laissé en contact pendant 2 heures à une température de 32° et, après rinçage, on recouvre d'une couche d'agar-agar. Après 2 jours d'incubation à 32°, on ajoute du rouge neutre à une dilution de 1/10.000 dans de l'eau distillée. Les plages de cellules lysées par le virus se détachent de la surface rose des cellules saines, et la lecture consiste à compter les plages. Le virus est titré en P.F.U.

../..

Récemment, KISCH (26) et ses collaborateurs ont, eux aussi, réussi à produire des plages avec leursvirus N.I.H., cette fois en culture de cellules diploïdes. Ils ont utilisé une technique voisine de celle décrite ci-dessus. Mais dans certaines boîtes de Pétri ils ont ajouté à l'agar-agar, soit du sulfate de sodium dextran (50 microg/ml.), soit du D.E.A.E. Dextran. (100 microg/ml.).

Il nous semble de quelque intérêt de rapporter ici leurs résultats: leurs 5 virus N.I.H., 353, 1059, 1734, 11757, et 33342, produisent des plages, mais elles se présentent à bords nets pour les types 353, 1059 et 11757, et à bords mal limités pour les 2 autres. L'addition de dextran sulfate ou de D.E.A.E. augmente dans tous les cas la surface des plages. Ceci est logique puisqu'on sait que ces 2 corps se combinent à des inhibiteurs de plages contenus dans l'agar-agar.(47) Il serait intéressant de poursuivre ces travaux pour voir si cette différence de forme correspond à des types différents.

* *

*

VI.- M O R P H O L O G I E

La découverte d'un effet cytopathogène tout d'abord, puis la possibilité de cultiver les Rhinovirus sur des cellules en lignée continue ensuite, a aidé à caractériser le virus. C'est ainsi que l'on a pu définir leur taille et leur constitution.

1°) TAILLE (25 - 23 - 8 - 22)

Trois techniques peuvent être employées : la filtration, la centrifugation, la microscopie électronique.

a) La filtration (12)

On emploie le plus souvent des membranes de GRADOCOL ou A.P.L., ayant été saturées avant l'opération proprement dite avec du bouillon stérile. Le virus étudié a été inoculé en culture de tissu, et c'est après l'apparition d'un effet cytopathogène que les tubes inoculés sont recueillis, centrifugés, puis traités par le fluorocarbone. Après une nouvelle centrifugation, des quantités de 20 ml. de matériel infectieux sont filtrés au travers de membranes possédant des pores, dont le diamètre va décroissant progressivement de 110 à 20 m/mu. Après chaque filtration, le filtrat recueilli, est testé pour son pouvoir infectieux, et le virus ré-identifié.

b) La centrifugation (12)

Cette technique est facile à réaliser, mais elle est moins précise que la précédente. Certains auteurs ont employé deux virus de contrôle dont on connaît la taille, tels que :

../..

- un virus Poliomyélite III (30 mmu.)
- un adénovirus 2 (70 mmu.)

Quelle que soit la technique employée, les résultats correspondent et on peut dire que les Rhinovirus sont des virus de taille inférieure à celle du virus de la poliomyélite, généralement entre 15 et 30 mmu. Ceci est valable quel que soit le virus testé et quelles que soient les cultures de tissus employées (7 - 13 - 12 - 23 - 34 - 50).

c) La microscopie électronique

Elle est venue confirmer les résultats des deux techniques précédentes. HOVATSON et ALMEIDA dans des cellules Hela ont mis en évidence des particules virales de 26 à 28 mmu. Ces cellules avaient été inoculées avec un Coryzavirus (type 18, souche 93).

D'autres auteurs, (12) (25) ont trouvé des particules de 18 mmu. de diamètre et dans un arrangement cristallin dans des cellules inoculées avec un autre Coryzavirus (souche 68).

2°) DENSITE

La densité des Rhinovirus est située aux environs de 1,3. Ceci est très en faveur d'une nature protéique de la particule virale (8).

3°) CONSTITUTION CHIMIQUE

La constitution chimique peut être déterminée par deux sortes de techniques :

- l'emploi de la 5 - fluorodéoxyuridine (F.U.D.R.)
- l'emploi d'enzymes détruisant spécifiquement l'acide ribonucléique ou l'acide désoxyribonucléique.

../..

a) On sait que la 5 - Fluorodéoxyuridine a pour propriété de détruire l'acide désoxyribonucléique. A partir de ce principe, on procède donc de la façon suivante : (12 - 25 - 26)

Dans les tubes de cultures employés, on répartit 1 ml,5 de milieu seul, ou de milieu auquel on a ajouté la 5-fluorodéoxyuridine à la concentration de 10^{-6} ou 10^{-5} Molaire. Environ deux heures après, on ajoute le Rhinovirus qu'on étudie, à la dose de 0,2 ml., on détermine par avance le titre de ce virus qui est employé à la dose voulue en moyenne : 100 TC ID 50/0,2 ml. Puis, on place les tubes en tambour roulant à 33° pendant une heure. Ensuite, on lave les cultures avec une solution physiologique, on remet le milieu normal en place, et on observe.

Dans des séries parallèles, certains auteurs ajoutent un virus de constitution connue telle que la vaccine, virus à acide désoxyribonucléique et les virus de la poliomyélite (7) ou de l'encéphalomyocardite (12 - 25), l'un et l'autre constitués d'acide ribonucléique.

On peut aussi observer les effets de la 5-FUDR. 10^{-6} Mol. à laquelle on ajoute de la thymidine à la concentration de 10^{-5} Mol. (cette dernière ayant la propriété d'inverser les effets de la première).

On pourra constater que la multiplication des virus de la poliomyélite et de l'encéphalomyocardite, et surtout des Rhinovirus étudiés n'est affectée en rien par la 5-FUDR.

Le virus de la vaccine, par contre, ne se multiplie pas dans les tubes contenant de la 5-FUDR., à moins qu'on y ait ajouté de la thymidine.

Récemment, (26) certains auteurs constatant que la 5-FUDR. à la concentration de 10^{-5} Mol. n'entraînait pas une disparition totale de l'effet cytopathogène du virus vaccinal, ont employé un analogue structural : la 5 Bromo-déoxyuridine. (5 BUDR.)

../..

Leurs résultats confirment ceux publiés jusqu'à ce jour. La BUDR. inhibe le virus de la vaccine, mais est sans action sur les Rhinovirus.

Ces Rhinovirus sont vraisemblablement constitués d'acide ribonucléïque. (26 - 12 - 25 - 7).

b) L'action des enzymes vient confirmer ces résultats (25) (13).

On a pu extraire d'un coryzavirus (type 11, souche 68), un acide nucléique et cet acide a été détruit spécifiquement par la ribonucléase, la désoxyribonucléase ayant été sans effet sur lui.

Ces Rhinovirus placés dans le cadre des virus connus de par leur constitution chimique parmi les virus à R.N.A. sont proches des Entérovirus. Ils s'en distinguent cependant par des propriétés différentes.

* *

*

VII.- P R O P R I E T E S

. La résistance des Rhinovirus a été très étudiée : tout d'abord on a pratiqué des congélations et décongélations répétées et on a étudié la résistance du virus se manifestant par sa multiplication en culture de tissu. Il semble que les Rhinovirus (au moins pour ceux étudiés) conservent toute leur vitalité après plusieurs décongélations (7).

Par ailleurs, certains auteurs ont étudié la résistance ultérieure du virus déjà obtenu par décongélation du prélèvement conservé à - 70°, à différentes températures.

Le principe consiste à mettre le virus dans un milieu de survie à des températures différentes (à l'aide de bain-marie (25) par exemple) et au bout du temps fixé mettre ce virus en tissu de culture et examiner quotidiennement les tubes.

Si on schématise les résultats obtenus, on obtient ceci :

(13 - 29 - 7 - 34 - 57 - 12)

. à - 70 °, le virus paraît persister indéfiniment;

. 4 °, en une semaine, le titre ne diminue pas (29). Certains ont retrouvé le virus jusqu'au 93ème jour de séjour à cette température (7),

. Entre 18 et 24°C : le taux infectieux reste stable environ 2 jours pour diminuer après (29). On ne le retrouve pas après 32 jours (34),

. 35 - 37° : le titre diminue rapidement en 2 jours (29). On ne retrouve le virus que pendant 4 jours (7) pour certains. Si on le met en évidence le 2ème jour, le 4ème il a complètement disparu (34).

../..

. à 56° : on obtient une inactivation totale en 20mn(29), après 30mn(57), après 4 heures (7), selon les virus auxquels on s'adresse.

Il reste le cas de la température limite qu'est 50°C.(7) : le virus appelé 140 F. résiste à un séjour de 180 heures.

Mais certains auteurs ont remarqué que si les souches H. du moins sont relativement résistantes, les résultats sont extrêmement variables quand on s'adresse à des Rhinovirus M. et E. 28., et ceci quel que soit le tissu de culture employé (25 - 13).

Ce fait nous amène tout naturellement à l'étude de la stabilisation à cette température par l'action du Cl_2Mg.

. Stabilité des Rhinovirus à la chaleur en présence de Cl_2Mg.

- Certains Rhinovirus sont complètement inactivés après un séjour de 1 h. à 50°.

- D'autres sont extrêmement résistants.

- Ceux qui nous intéressent ici sont les Rhinovirus qui disparaissent partiellement sous l'action de la chaleur.

On procède ainsi (26) : on place les tubes contenant le virus dans un bain-marie à 50° pendant une heure, le virus étant maintenu dans un milieu convenable auquel on a ajouté 2 Mol. $MgCl_2$ ou ClNa 0,15 Mol. On laisse quelques tubes à la température de la pièce en guise de témoins. Puis on les titre par des dilutions de 10 en 10, dans des séries de 4 tubes par dilution.

On observe les tubes pour l'apparition de l'effet cytopathogène éventuel.

Il découle de cette observation que les Rhinovirus sont stabilisés par le chlorure de magnésium puisque l'effet cytopathogène apparaît dans les délais normaux (13).

../..

• Résistance à l'éther

La stabilité des Rhinovirus en présence d'éther est un caractère qui leur est commun avec d'autres virus, en particulier les Entérovirus.

La technique est simple à réaliser :

- on met le virus préparé en culture de tissu en présence d'une suspension d'éther éthylique à 20 %. On les laisse en présence à 4° C. pendant 16 heures ou une nuit.

- le lendemain l'éther est retiré :

  . soit par barbottage de nitrogène à travers la suspension, pendant 5 minutes et à la température de la pièce (23),

  . soit par simple évaporation à 37 ° (7),

  . soit par évaporation du culot de centrifugation de la suspension virus/éther (34).

C'est ce matériel qu'on inocule dans des tubes de culture, afin d'observer ou non l'apparition de l'effet cytopathogène caractéristique.

Bien entendu, à titre de témoin, on inoculera des tubes par du virus non traité.

Les résultats concordent absolument :

les 20 coryzavirus (12)

les 6 rhinovirus (57)

les 5 virus isolés aux Etats Unis (23)

l'Echo 28 (34),

sont résistants à l'éther, et leur taux d'infectivité reste inchangé.

• Acido-labilité

Une de leurs propriétés est très intéressante puisqu'elle permet de les distinguer des Entérovirus : leur acidolabilité.

On peut employer deux techniques : (55)

1ère technique :

Le virus à tester est dilué au 1/10 dans le milieu (généralement le milieu de Eagle), puis on l'ajoute d'une part au milieu sans bicarbonate de pH 2,8 , d'autre part au même milieu contenant du tampon Tris 0,01 Mol., ce qui donne un pH de 7,2 (25 - 55 - 52).

On laisse le virus dans ces milieux de pH différents, pendant 3 à 4 heures, à la température du laboratoire. On vérifie les pH de ces différents milieux à la fin de l'opération, et avant de les inoculer dans les tubes de culture, on réajuste le pH afin d'avoir des milieux voisins de la neutralité.

On met les tubes à l'étuve et dans les conditions favorables pour les Rhinovirus, on observe alors l'apparition éventuelle d'un effet cytopathogène.

Dans certains cas (26), les auteurs utilisent l'acide chlorhydrique pour obtenir l'acidité du premier milieu ; ils ne le réajustent pas à la neutralité avant de titrer l'infectivité du virus.

2ème technique :

- Le virus en culture est mélangé en quantité égale avec un mélange acide citrique-citrate de soude 0,1 Mol., ce qui correspond à un pH de 4, ou est mélangé à un tampon phosphaté 0,1 Mol. : on obtient un pH de 5.

- D'autre part, on le mélange à du phosphate de sodium 0,1 Mol. grâce auquel le milieu atteint un pH de 7.

On laisse le virus en contact avec ces différents milieux une heure dans un bain-marie à 37°. On dilue ensuite le virus dans un volume de tampon phosphaté à 0,5 Mol. (pH 7) avant de le diluer une nouvelle fois au 1/5 dans le milieu, puis on titre le virus pour son infectivité.

../..

On peut traiter dans les mêmes conditions des virus connus pour être acidostables (virus de la poliomyélite) ou acidolabiles (Echo 28) et titrer leur infectivité (7).

De même, on inocule des tubes avec des Rhinovirus non traités.

Résultats :

On dit que le virus est acidolabile si la plus petite dilution du virus ainsi traité ne donne plus trace d'infectivité alors qu'une dilution dix fois plus grande du virus normal donne l'apparition d'un effet cytopathogèn

Certains auteurs précisent qu'une chute de 100 TCID 50 ou plus dans l'échantillon acide par rapport au contrôle indique une acidolabilité (7). Grâce à quoi on a ainsi pu prouver que :

- les coryzavirus (25)
- les 6 Rhinovirus
- les souches isolées à Chicago (106 F.
  (140 F. (7)
  (179 E.
- quelques souches Salisbury PK.
  HGP. (57)
  FEB.

sont acidolabiles, alors que les virus Echo, coxsackie, réovirus, sont stables (13).

Cette propriété facile à rechercher présente donc un grand intérêt.

• On a aussi recherché la sensibilité du Rhinovirus à la 2 (α - hydroxybenzol), benzimidazole (H.B.B.) (7) (26)

Le principe consiste à mettre en présence du Rhinovirus (100 TCID 50 en moyenne) un milieu de survie contenant 200 micro Mol. par litre de HBB.

On traite de la même façon des virus témoins : l'Echo 11 (HBB sensible) et Echo 28 (HBB résistant) (7). Bien entendu, quelques uns seront inoculés par du virus normal.

Les cultures sont examinées quotidiennement et on considère qu'il y a inhibition du Rhinovirus quand ces 200 micro Mol. HBB entraînent une diminution de l'effet cytopathogène d'au moins 25 % par rapport aux tubes témoins.

Les résultats sont les suivants : TANN et EGGERS (48) ont montré que seuls des Entérovirus connus, l'Echo 22 et 23 ne sont pas inhibés, tout comme les virus Echo 28,

HGP) souche Salisbury

B 632) " "

D'autres Rhinovirus sont résistants : tels le 106 F., 140 F., 179 E., souches isolées à Chicago (7).

Les 5 virus isolés à l'N.I.H. sont, eux aussi, résistants, du moins les virus 353, 1734, 11757 et 33342, le virus 1059 serait partiellement inhibé.

• On a étudié récemment (26) l'action de la trypsine sur quelques Rhinovirus

Cette recherche consiste à mettre en présence virus et enzyme à parties égales (0,5 ml.). La trypsine cristallisée est employée, dissoute dans un milieu tampon au phosphate 0,15 Mol. au pH 7,6 ou pH 6,4. Elle est préparée extemporanément.

../..

Le virus est employé à la dose de 100 à 1000 TCID 50.

On place le mélange une heure à 37° dans un bain-marie.

Après cette incubation, l'action de la trypsine est arrêtée par l'addition de 0,5 ml. d'un inhibiteur, lui aussi dilué dans le tampon phosphaté. Le mélange (une dilution au 1/3 du matériel viral initial) est immédiatement testé pour son infectivité.

On emploie des tubes témoins avec des virus connus (Echo, Coxsackie), traité dans les mêmes conditions. On a testé l'inhibiteur en l'inoculant avec le virus et le milieu tampon seul dans les tubes.

Les résultats suivants ont alors été obtenus :

Pour les Rhinovirus :

la souche 1059 est résistante

les souches 353)
1734)
11757) sont inactivées
33342)

Parmi les souches Salisbury :

Sal /1/51/H.)
Sal /1/58/H. FEB.)
Sal /1/59/H/ Thompson) sont résistantes
Sheff /1/60/H. 16/60)

Sal /1/60/ M. B 632. : est inactivée,

la souche HGP. : partiellement seulement.

../..

Echo 28, lui, est inactivé par la trypsine.

Tous les coxsackies B. et A. jusqu'à A. 21, sont résistants et les Echo sont en majorité résistants.

On voit que l'étude de ces différentes propriétés présente l'intérêt de grouper ces Rhinovirus et de les distinguer des autres Picornavirus (6).

* *

*

VIII.- PROPRIETES ANTIGENIQUES

.Antigène fixant le complément

On a essayé dès la mise en évidence de l'effet cytopathogène des Rhinovirus d'obtenir avec les tissus infectés un antigène fixant le complément.

Les essais ont été effectués avec des cultures de rein de singe (37) (34), puis avec des cellules Kb (29), recueillies après complète dégénérescence de la couche cellulaire. On centrifugeait après 2 ou 3 congélations - décongélations répétées, et c'était le surnageant qui servait d'antigène. Bien qu'on ait essayé à plusieurs reprises de concentrer cet antigène, on n'a pu obtenir de réaction de déviation de complément valable en présence de l'antisérum correspondant.

. Antigène hemagglutinant

On a recherché, au moins pour certains Rhinovirus, s'ils hémagglutinaient. On les a mis en présence de globules rouges provenant d'animaux variés tels que cobayes, coq, poulet, singe rhésus, mouton, lapin, et de globules humains du type O, à des PH acides et alcalins et à des températures variées : 4°, 22°, 35°.

On n'a pu, à l'heure actuelle, obtenir d'hémagglutination. (12 - 23 - 30 - 42).

. La réaction de neutralisation

Le principe consiste à mettre du virus à dose convenable, en présence de sérum à des dilutions croissantes, et d'inoculer le mélange dans des tubes de culture où on observera l'apparition de l'effet cytopathogène.

../..

1°) Dans la réaction de neutralisation ordinaire

Le virus est tout d'abord titré.

Dilué, et chaque dilution inoculée, à la quantité de 0,1 ou 0,2 ml/tube, dans 4 tubes, par exemple, on lit le titre comme nous l'avons indiqué précédemment. On emploie le virus à des doses différentes suivant qu'il s'agit de l'identifier par action de l'antisérum préparé chez l'animal, ou qu'on recherche les anticorps correspondants dans le sérum du malade présentant ce Rhinovirus. On utilise 32 à 100 TCID.50 pour 0,2 ml. dans le premier cas (5 - 23 - 27 - 31), certains vont jusqu'à 2000 TCID 50 (25), et 3,2 à 10 TCID 50 par 0,2 ml. dans le 2ème. (7).

Une fois fixée la quantité de virus à employer, on le met en présence du sérum à tester.

- Ce sérum peut être celui d'un sujet malade et la technique de prélèvement a été précédemment indiquée.

- Ou celui d'un animal. Pour obtenir un antisérum :

. Chez le cobaye : on récolte les cellules infectées par le Rhinovirus, on les congèle, puis décongèle avant de les homogénéiser par du fluoro-carbone 113 (génétron) et à 2 volumes de virus on ajoute 1 volume de ce produit (23). Certains l'emploient combiné à de l'Arlacel A. 10 %, et Drakéol 90 % et c'est à parties égales que le virus sera utilisé (25).

On fait agir pendant 3 minutes à la température de la glace fondante, puis on centrifuge l'homogénat, c'est le surnageant qui servira pour l'immunisation des animaux.

On inocule les animaux par voie sous-cutanée : 2 injections à 6 semaines d'intervalle, la saignée finale ayant lieu 2 semaines après la 2ème injection (25).

../..

On peut employer la voie intra-musculaire. On mélange 0,5 ml. de virus à 0,5 ml. d'adjuvant de Freund complet; 2 à 3 semaines après on injecte à nouveau la même dose de virus mais combinée à 0,5 ml. d'adjuvant de Freund incomplet; enfin 2 à 3 semaines plus tard on injecte le virus pur (0,5 ml.).

La saignée est effectuée une semaine plus tard.

Les sérums sont conservés à - 20°.

. Chez le lapin : (29)

On emploie le virus centrifugé en présence de fluorocarbone, en intramusculaire ou en intraveineux.

Par voie intramusculaire, le virus peut être employé combiné à un adjuvant.

Par voie intraveineuse, l'inoculation se fait avec 20 ml. de matériel viral, on la répète 2 semaines plus tard. On recueille le sang des animaux un mois après la première injection.

Ces sérums sont employés inactivés par chauffage 30 minutes à 56°. Des dilutions sont pratiquées de 2 en 2 ou de 4 en 4 et chaque dilution est mise en présence du virus en proportions égales. On les laisse en contact 1 heure à la température du laboratoire (38 - 29 - 5 - 52 - 23). Il semble qu'un contact de 2 heures à 37° entraînerait une fixation plus grande de l'anticorps sur le virus (29), mais pour des raisons pratiques, c'est la première technique qui a prévalu.

Puis on inocule 0,1 ou 0,2 ml. du mélange dans chacun des 4 tubes de culture préalablement rincés avec une solution physiologique pour enlever toute trace de sérum.

../..

On observe alors tous les jours, ou tous les 2 jours, pendant 3 semaines environ : le titre d'anticorps est la première dilution donnant une inhibition de la dose de virus employé. (29 - 23 - 52).

D'autres considèrent comme le titre la plus grande dilution de sérum qui réduit de 75 % ou plus l'effet cytopathogène qui est pratiquement à 100 % dans les tubes témoins (25).

2°) Test de réduction des microplages

Le principe de la neutralisation reste le même mais le virus employé est titré en unités formant des plages P.F.U. et employé à la dose de 30 ou 100 à 500 P.F.U./ml. (7 - 49).

- la neutralisation se pratique en mettant 0,5 ml. de virus en présence de 0,5 ml. de sérum dilué de 4 en 4 (après inactivation),
- on les laisse en contact 2 heures à la température du laboratoire,
- après quoi, on inocule 0,2 ml. du mélange dans 4 tubes ; on pratique parallèlement cette réaction avec le virus dilué au 1/3 et on observe au microscope ; on lit le test quand les tubes témoins montrent des microplages (environ 40), généralement 2 à 3 jours après l'inoculation. Le titre étant donné par la constante K. :

$$K\ tc = \log e \frac{Vo}{Vt}$$

ou Vo = nombre de plages au temps 0, c'est-à-dire dans les tubes témoins

V = nombre au temps + (c'est-à-dire dans les tubes contenant le mélange virus sérum),

t = 2 heures

C = concentration du sérum.

../..

Quand la dilution du sérum est au 1/20, une valeur de K de 0,2 correspond à une diminution du nombre des plages du tiers (considérée comme une neutralisation), ou si K = 0,2 , ceci correspond à 50 % d'inactivation par une dilution du sérum au 1/40.

Il semble que cette dernière technique soit plus sensible que la méthode conventionnelle (50 - 52).

Elle est utilisable actuellement en rein d'embryon humain, en rein de singe (49 - 52), en rein humain (49), et en W 1 26 (26 - 52).

3°) Les résultats sont les suivants :

a) par action de sérum provenant d'animaux; on a réussi :

- à séparer ces Rhinovirus des Entérovirus :
  - poliomyélite ,
  - écho,
  - coxsackies pour ceux qui sont isolés en culture de tissu.
- à les identifier les uns par rapport aux autres.

Ceci est réalisé en exigeant que les 100 TC ID 50 du virus étudié soient neutralisés par 20 U. d'antisérum.

On peut ainsi dans l'état actuel des connaissances dresser les tableaux suivants :

../..

VIRUS SOUCHES M.	ANTI-SERUM E28	HGP	B632	Cor.30	353	1059	1734	11757	33342	FEB	No	Th	1660	Co H. 11 29
H.G.P. SAL. 1.57.M.	-	+	-							-	-	-	-	
P.K. SAL. 1.56.M.	-	+	-											
HARRISON SAL.1.55.M.	-	+	-											
B.632 SAL.1.60.M.	±	-	+								-	-	-	
B.633 SAL.2.60.M.	-	-	+											
BELDWELL Indiana-polis.1.60.M.	-	-	+											
B.702 Sal.3.60.M.	+	-	-											
P.P. Sal.4.60.M.	+	-	±							-	-	-	-	
3. CHI.60.	+													
7.CHI.60.	-													
42.CHI.61.	-													
47.CHI.61	-													
J.H.20.60.Echo28.	+	-	-							-	-	-	-	
Coryzavirus 30	-	-	-	+						-				
106 F.	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
140 F.	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-		-	
179 E.	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-		-	
K.772.	+					-								
K.778.	+													
K.793.	+													
K.779.			+											

REACTION DE NEUTRALISATION DES RHINOVIRUS M. EN PRESENCE D'ANTISERUM

\+ = identité sérologique

\- = différence antigénique

± = identité probable

../..

SOUCHES H. / Virus	E28	HGP	B632	COR30	353	1059	1734	11757	33342	FEB	NO	Th	1660	COR. 11/29
I.H. 353	-	-			+	-	-	-	-	-				
1059	-	-			-	+	-	-	-	-				
1734	-	-			-	-	+	-	-	-				
11757	-	-			-	-	-	+	-	-				
33342	-	-			-	-	-	-	+	-				
EB. SAL.I.58.H.	-	-	-							+	-	-	-	-
ORMAN SAL.1.51.H.	-	-	-							-	+	-	-	-
HOMPSON SAL.1.59.H.	-	-	-							-	-	+	-	-
6/60 SHEF. 1.60.H.	-	-	-							-	-	-	+	-
9 CORYZA de 11 à 29	-	-	-	-						-				+
.C. "		-	-							-	-	-	-	

REACTION DE NEUTRALISATION DES RHINOVIRUS H. EN PRESENCE D'ANTISERUM

* * *

	VIRUS								
SERUM	353	1059	1734	11757	33342	COR.H. 11-29	COR.M. 30	Th.	
M. HGP.	-	-	-	-	-	-	-		
B. 632	-	-	-	-	-				
179 E.								-	
106 E.								-	
140 F.								-	
H. FEB.	-	-	-	-	-	-	-		
NO.	-	-	-	-	-	-	-		
Th.	-	-	-	-	-	-	-		
16.60	-	-	-	-	-	-	-		

NEUTRALISATION DE SERUMS PREPARES AVEC SOUCHES M. & H.

PAR CERTAINS RHINOVIRUS

* * *

../..

En conclusion, on peut dire que :

il existe au moins 20 coryzavirus

5 souches isolées à l'Institut National of Health

ECHO. . 28

6 Rhinovirus isolés en Grande-Bretagne

soit 32 types différents.

La difficulté de réaliser des stocks assez considérables de virus et d'antisérum correspondants empêche les échanges et par là l'indentification poussée des différents Rhinovirus isolés jusqu'à ce jour.

b) par action de sérums recueillis chez les convalescents

Ce sérum est employé dilué de 4 en 4 et mis en présence de 3,2 à 10 TC ID 50, on constate que les taux d'anticorps neutralisants apparaissent lentement et sont peu élevés.

Quoiqu'il en soit, on a pu suivre l'évolution du taux de ces anticorps et faire ainsi une étude épidémiologique du rhume. On a ainsi vu chez des personnes naturellement malades ou lors d'expériences :

- que des anticorps apparaissent dans le sérum
- qu'au bout d'un mois ils sont à un taux peu élevé, atteignant le 1/128 pour les souches M., 1/8 pour les souhes H. (21).

On a essayé d'inoculer des volontaires avec un mélange virus/sérum, ce sérum ayant été prélevé chez un sujet à des intervalles de temps variables après un rhume naturellement acquis.

../..

Le virus + sérum de 1 mois donnait 64 % de rhumes chez les volontaires,

de 6 mois " 19 %,

de 12 mois " 17 %,

de 18 mois " 9 %,

de 24 mois " 31 %.

Il s'ensuit donc que le sujet est protégé à partir de 6 mois et pendant 2 ans. Cependant TAYLOR-ROBINSON ayant pu suivre un sujet pendant 7 à 8 ans a trouvé des anticorps anti B 632 après cet intervalle de temps.

Ces anticorps semblent jouer un rôle protecteur.(50 - 53 - 31).

Il existe une substance analogue dans les sécrétions nasales qui apparaît 4 à 5 semaines après le début de la maladie, cette substance serait une globuline et neutralise le virus dans des proportions moindres que les anticorps du sérum : 1/10 pour certains, 1/250 pour d'autres du taux des anticorps sériques (42 - 31).

* * *

IX.- PHENOMENE D'INTERFERENCE

Au tout début des recherches sur l'agent du rhume de cerveau, on n'a pu le mettre en évidence que par le phénomène d'interférence.

Principe : On inocule des tubes contenant le tissu de culture choisi avec le produit pathologique contenant le Rhinovirus : 5 jours plus tard on ajoute un virus qui, entrant en compétition avec le premier, se multipliera à des doses moindres que s'il était seul. Il suffira d'observer l'effet cytopathogène et de titrer ce virus pour en déduire la présence du Rhinovirus interférent.

../..

La technique employée par les auteurs Anglais qui ont décrit les premiers ce phénomène est la suivante : ils ont utilisé des cellules rénales humaines maintenues en survie dans du milieu 199. L'incubation se faisait à 33° et en tambour roulant. Le virus de compétition était soit du virus parainfluenza type 1 (souche Sandaï), soit Echo 11 souche U.(15)

Le Rhinovirus inoculé dans 5 à 10 tubes, on ajoutait 5 jours après le virus Echo 11 (le plus fréquement employé car il donne des résultats plus précis).

La multiplication du virus Echo 11 était mise en évidence puis titré par une réaction d'hémagglutination en employant des globules rouges humains dilués à 1 % dans une solution physiologique : la réaction se pratiquant à la température du laboratoire.

Des expériences répétées ont prouvé qu'il existait bien un agent interférent avec l'Echo 11 dans les cultures infectées avec du matériel rhinopharyngé provenant de malade et non dans les tubes de contrôle.

Cet agent interférent possédait les propriétés des Rhinovirus : sensibilité à la chaleur et à l'acidité du milieu, résistance à l'éther.

D'autres auteurs, cherchant à mettre en évidence cette interférence en rein de singe, n'ont obtenu aucun résultat quant à une culture contenant un Rhinovirus, ils ajoutaient un virus Polio 1 souche L Sc. qu'ils titraient par neutralisation. (23).

../..

X.- E P I D E M I O L O G I E

Avant même que le nom de Rhinovirus ne leur soit attribué, alors que les premiers virus isolés étaient encore considérés comme Entérovirus, des Commissions du "rhume de cerveau" nommées dans différents pays travaillaient à préciser les conditions d'apparition de la maladie dans le but de trouver là peut-être le secret de l'isolement du virus responsable (18).

a) Rôle des conditions ambiantes

C'est ainsi que suivant quelques 350 volontaires de façon systématique, on a pu mettre en évidence certainsfaits.

1°) un être humain est enrhumé pendant 1/5 de sa vie, ce qui correspond à environ 70 jours de maladie par an,

2°) on a pu prouver le rôle de la température, l'auteur HOPE-SIMPSON ayant étudié le rapport rhume-température terrestre a constaté que pour une baisse de 0,6° C. (1° F.), la morbidité augmente de 1 %.

En fait, on n'observe pas plus de rhume dans les régions polaires que sous les tropiques. Cependant, on observe relativement plus de rhumes l'hiver et on a essayé en refroidissant des volontaires de leur inoculer la maladie ; ils ne se sont pas révélés plus susceptibles que les volontaires sans traitement préalable (20).

On note une légère différence entre la présence des Rhinovirus suivant qu'ils sont M. ou H., les M. prédominant en hiver,

les H. au printemps et pour JOHNSON et BLOOM

en automne.

../..

b) Rôle de l'hôte

Lors d'une enquête on a pu déduire qu'il existait un petit pourcentage de 2,6 % de personnes qui n'étaient jamais enrhumées. D'autres, au contraire, peut-être présentant un terrain allergique, le sont en permanence.

c) Répartition géographique des rhumes de cerveau

On a pu, en prélevant du sang chez des sujets adultes, établir une carte du taux des anticorps circulants, dans différents pays. En ce qui concerne 2 virus HGP et B 632, TAYLOR-ROBINSON (50) montre que chez l'adulte on trouve un certain pourcentage de sérums positifs :

	pour HGP.	pour B 632
au Chili	80	80
en Tchécoslovaquie ..	47	53
en Grande-Bretagne ..	66	80
aux Indes	80	92
en Italie	66	36
en Jamaïque	66	80
au Liban	53	73
en Malaisie	73	87
en Afrique du Sud ...	60	73
aux U.S.A.	45	

Il ne semble pas que la France ait participé à cette étude.

d) Rôle de l'âge

- Déjà en 1962, HOBSON et SCHILD n'avaient pas trouvé d'anticorps au-dessous de 10 ans pour ces deux virus,

- Pour 187 individus, on ne trouve que : (43)

../..

../.. 23 % d'anticorps chez l'enfant,

51 % " chez l'adolescent,

68 % chez l'adulte,

contre le virus 20-60.

- Cependant, JOHNSON et ROSEN (23) ont montré que si pour 4 de leurs virus il n'y a pas d'anticorps chez le tout petit, pour NIH 1734, 41 % ont des anticorps de 1 à 4 ans.

Quoiqu'il en soit, il semble que plus on avance en âge, moins on est sensible au virus. Récemment le docteur HAMRE, recherchant systématiquement les Rhinovirus chez des personnes âgées (moyenne d'âge 82 ans), les a mis en évidence alors même que les sujets ne présentaient aucun signe pathologique.

* * *

XI.- DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

On connaît maints virus qui donnent des symptômes semblables à ceux causés par les Rhinovirus, en particulier certains virus Coxsackies, Adénovirus, Para influenzaeet Virus respiratoire syncitial.

La clinique ne peut aider au diagnostic, c'est donc dire l'intérêt du laboratoire dans ce cas particulier.

On aura intérêt dans le cas d'une affection respiratoire à ensemencer plusieurs types de culture : rein de singe, primaire et secondaire;

cellule d'origine humaine,

lignées continues.

On pratiquera une réaction d'hemadsorption pour éliminer les Myxovirus, on recherchera l'agglutination de globules rouges, ou on pratiquera une réaction de déviation du complément pour éliminer les Adénovirus.

../..

../.. Les virus Coxsackies étant pathogènes pour le souriceau nouveau-né.

Dans les cultures inoculées dans les conditions de culture décrites, le diagnostic du Rhinovirus sera en quelque sorte un diagnostic d'élimination.

* * *

XII.- ANATOMIE PATHOLOGIQUE

HILDING en 1930 a montré que le rhume de cerveau s'accompagnait :

d'oedème de la sous muqueuse,

de congestion vasculaire,

qu'une infiltration légère s'étendait au niveau de l'épithélium de surface.

* * *

XIII.- TRAITEMENT

Encore actuellement le nombre des médications utilisées dans le traitement du rhume de cerveau rend compte de leur inefficacité complète.

1°) Prophylactique

On a essayé de mettre au point des traitements spécifiques en vaccinant les sujets. Nous avons vu le nombre de Rhinovirus isolés jusqu'à ce jour et le nombre de types différents parmiceux qu'on a pu étudier par neutralisation. C'est dire que cette vaccination paraît plus une question de travail de recherche que de pratique courante.

Cependant, comme l'avait déjà montré PRICE en 1956 (41) : en immunisant des enfants avec le virus J H, on obtenait une protection contre ce virus donné.

../..

JACKSON et ses collaborateurs (19) ont essayé de renouveler l'expérience en réinoculant les mêmes sujets avec les mêmes virus vivants. Après 4 semaines à 8 mois d'intervalle, ils ont obtenu une différence notable de rhumes puisque pour en moyenne 38 % de malades, lors de la première inoculation, ils n'ont eu que 5 % la deuxième fois, quel que soit le virus - JH ou 2060 - employé la première ou la deuxième fois, et que cette protection est associée à la présence des anticorps correspondants dans le sérum des malades.

Mais il s'agit d'anticorps spécifiques et on ne peut réaliser un vaccin actif contre tous les Rhinovirus connus actuellement.

Il semble exister un phénomène de résistance, non lié aux anticorps circulants, mais de courte durée, puisque lors d'expériences chez les volontaires on a vu qu'un mois après, alors que le taux des anticorps était peu élevé, la réinoculation n'entraînait pas la maladie.

2°) Les antibiotiques

Jusqu'à ce jour, on ne connaît pas d'antibiotiques actifs sur les virus.

Dans le cas du rhume de cerveau, l'emploi d'antibiotiques présente un intérêt en cas de surinfection par des bactéries.

3°) Agents antiviraux

- Interféron

On connaît actuellement une protéine particulière appelée interféron, produite par les cellules en réaction à la présence d'un virus. L'interféron est actif sur les Rhinovirus comme sur les autres, mais sans grand intérêt pratique.

- Action de l'agent antiviral 1758 (40)

Cet agent dérive de cultures de pénicillinum stolchiferum, et inhibe l'effet cytopathogène d'un Rhinovirus (HGP.). Malheureusement il semble que l'action de cet agent se localise au tissu et non au virus lui-même.

* *

*

C O N C L U S I O N S

Le rhume de cerveau est une maladie bénigne, provoquée par des agents variés. On a pu isoler deux cas typiques : des Myxovirus, des Adénovirus, des Entérovirus, ainsi que le virus respiratoire syncitial. Cependant, il semble que 30 % de ces rhumes soient dus aux Rhinovirus.

Il suffit de rappeler les signes cliniques présentés par les malades, porteurs de virus isolés. TYRRELL, HAMPARIAN, HAMRE, MOGABGAB, et bien d'autres auteurs encore, observent chez leurs malades rhinorrhée, toux, céphalée, pharyngite, et une température subfébrile.

On constate cependant une très légère différence en ce qui concerne les enfants : si l'adulte fait une maladie respiratoire bénigne dans 100 % des cas, l'enfant pour 65 % de rhume typique, présente 20 % de bronchites, 7 % de laryngites et 7 % de bronchopneumonies.

L'isolement de ces virus à partir des sécrétions nasales de sujets enrhumés, s'accompagne d'une augmentation du taux des anticorps correspondants.

../..

On ne les retrouve pas dans les selles. Pour 65 prélèvements de gorge positifs, JOHNSON (22) et coll. n'ont pu retrouver un seul virus dans les selles des malades correspondants.

L'apparition de l'effet cytopathogène à 33 ° en tambour roulant, avec des milieux de pH. généralement plus acides que ceux utilisés d'ordinaire, les a bientôt fait séparer des Entérovirus.

Cette distinction est confirmée par l'étude des propriétés de ces Rhinovirus : s'ils sont de petite taille, de symétrie cubique, constitués d'acide ribonucléique et résistants à l'éther comme eux, ils s'en distinguent par leur acidolabilité, et leur stabilisation à la chaleur par le Cl_2 Mg.

Ce sont ces deux derniers caractères bien particuliers, joints à l'origine rhinopharyngée et aux conditions d'isolement de ces virus, qui ont fait proposer le nom de RHINOVIRUS par Sir Christopher ANDREWES, instigateur de toutes ces recherches (1).

Désormais, on peut classer ces virus dans le groupe des Picornavirus d'origine humaine, comprenant les Entérovirus, les Rhinovirus et des virus non encore classés (6).

Le travail n'est pas terminé pour autant, car il serait souhaitable d'arriver à une classification claire, précise et logique, à l'intérieur de ce groupe.

../..

On peut obtenir une première approximation en culture de tissu et distinguer les souches M. des souches H. Mais les différences antigéniques ne peuvent être recherchées actuellement que par la réaction de neutralisation. Il nous paraît souhaitable de pousser plus loin les investigations, en particulier à la mise en évidence d'une hémagglutinine éventuelle qui permettrait un travail plus aisé et plus rapide.

Bien que les recherches aient avancé à une grande cadence ces cinq dernières années, un traitement efficace du rhume de cerveau n'a encore pu être mis au point. Les espoirs, un instant portés sur une vaccination éventuelle, paraissent compromis devant le nombre de Rhinovirus isolés. ANDREWES lui-même, au cours d'un entretien avec la presse, a conseillé ironiquement de boire des boissons chaudes et de garder la chambre en attendant la mise au point d'une thérapeutique plus spécifique.

B I B L I O G R A P H I E

1.- ANDREWES C.H., BURNET F.M., ENDERS J.F., GARD S., HIRST C.K., KAPLAN M.M., ZHDANOV V.M.; Taxomomy of viruses infecting vertebrates : present knowledge and ignorance.
Virology. 15.52 - 55. Nov. 1961.

2.- BUCKLAND F.E., DOGGETT J.E., TYRRELL D.A.J. The specificity of the antibody responses of Human Volunteers to certain respiratory viruses.
Jour. AM. Camb. 1964.62.115.

3.- BLOOM H.H., FORSYTH B.R., JOHNSON K.M., CHANOCK R.M. Relationship of Rhinovirus infection to mild upper respiratory disease. Result of a survey in young adults and children.
Jour. Amer. Med. Assoc. Oct. 5 1963.Vol. 186.38-45.

4.- BYNOE M.L., HORNER J., SCHILD G.C., HOBSON D., KIPPS A., TYRRELL D.A.J. Inoculation of human volunteers with a strain isolated from a common cold.
Lancet. 1961.1.1194.

5.- CATE T.R., COUGH R.B., JOHNSON K.M. Studies with Rhinoviruses in Volunteers Production of illness, effect of naturally acquired antibody, and demonstration of protective effect not associated with serum antibody.
Jour. of Clin. Invest. Vol. 43. No 1.1964.

6.- COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL ENTEROVIRUS STUDY GROUP OF THE PICORNAVIRUS GROUP.
Virology 19-114. Jan. 1963.

7.- CONNELLY A.P., HAMRE D., Virologic studies on acute respiratory illness in young Adults. II Characteristics ans serologic studies of three New Rhinoviruses.
Jour. Lab. Clin. Med. Vol. 63. No 1.30-43.Janv. 1964.

8.- DIMMOCK N.J., TYRRELL D.A.J., Physicochemical properties of some viruses isolated from common colds (Rhinoviruses)
Lancet. II.536.1962.

../..

9.- DOCHEZ A.R., SHIBLEY G.S., MILLS K.C. Studies in the common cold. IV. Experimental transmission of the common cold to Anthropoidapes and Human beings by means of a filtrable agent. Jour. Exp. Med. 52.701.1930.

10.- HAJRE D., PROCKNOW J.J. , Virologic studies on Common Colds among Young Adult Medical Students Amer.Rev.Resp.Diseases.Vol.88.No3.Part2.p277. Sept.1963

11.- HAJRE D., PROCKNOW J.J. Viruses isolated from naturel Common Colds in the U.S.A. British Med. Jour. Nov.25.1961.Vol.11. p 1382-1385.

12.- HAMPARIAN V.V., KETLER A., HILLEMAN M.R. Recovery of New Viruses (Coryzavirus) from Cases of Common Cold in Human Adults Soc. Exp. Bio. Med. 1961. Vol. 108.444-453.

13.- HAMPARIAN V.V., KETLER A., HILLEMAN M.R. Echo 28 - Rhinovirus-Coryzavirus Group of Viruses. Amer. Review of Resp. Diseases. Vol.88.No3.Part. 2. Sept. 1963.

14.- HAYFLICK L., MOORHEAD P.S. The serial Cultivation of Human Dploid Cell. Strain. Exp. Cell. Research. 1961.25.585-621.

15.- HITCHCOCK G., TYRRELL D.A.J., Some Virus Isolations from Common Colds. II Virus Interference in Tissue Culture. Lancet. 1.237.Jan.30.1960.

16.- HOBSON D., SCHILD G.C. Virological studies on natural Common Colds in Sheffield in 1960.British Med. Jour. II. 1414-1418. Nov. 1960.

17.- HOLPER J.C., MILLER L.F., CRAWFORD Y., SYLVESTER J.C., MARQUIS G.S. Further Studies on Multiplication, Serology and Antigenicity of 2060 and JH. Viruses. Jour. Infect. Diseases. Nov.Dec.1960.Vol.107.395-401.

18.- HOPE SIMPSON R.E. Discussion on the Common Cold. Proc. Roy. Soc. Med. Vol. 51. p 267.1958.

19.- JACKSON G.G., DOWLING H.F., MOGABGAB W.J. Infectivity and Interrelationships of 2060 and JH. Viruses in Volunteers. Jour. Lab. Clin. Med. St Louis. Vol.55. No3. p. 331-341.March 1960.

20.- JACKSON G.G., DOWLING H.F., MULDOON R.L. Present Concept of the Common Cold. Amer. Jour. Public. Health. Vol. 52. No 6. June 1962.

21.- JACKSON G.G., DOWLING H.F., AKERS L.W., MULDOON R.L., VAN DYKE A., JOHNSON G.C. Immunity to the Common Cold from protective Serum Antibody. Time of Appearence, persistence and Relation to Reinfection. New England Jour.Med.266.791-796.April 19 1962

../..

22.- JOHNSON K.M., BLOMM H.H., CHANOCK R.M., MUFSON M.A., KNIGHTV. The Newer Enteroviruses.
Amer. Jour. Pub. Health. Vol. 52 No 6. June 1962.

23.- JOHNSON K.M., ROSEN L. Characteristics of Five Newly Recognised Enteroviruses Recovered from the Human Oropharynx.
Amer. Jour. Hyg. Vol.77 No 1. p 15-25. Jan. 1963.

24.- KENDALL E.J.C., BYNOE M.L., TYRRELL D.A.J. Virus Isolations from Common Colds Occuring in a Residential School.
Brit. Med. Jour. July 14.1962.Vol.11. p.82-86.

25.- KETLER A., HAMPARIAN V.V., HILLEMANN M.R. Characterisation and classification of Echo 28.-Rhinovirus-Coryzavirus Agents.
Proc. Soc. exp. Bio.Med. 1962. Vol10.821-831.

26.- KISCH A.L., WEBB P.A., JOHNSON K.M. Further Properties of Five Newly Recognized Picornaviruses (Rhinoviruses).
Amer. Jour. Hyg. Vol. 79. No2 p 125-133. March 1964.

27.- KJERSGAARD R., LINDBOM G., DINTER Z., PHILIPSON L., Aetiology of Respiratory Tract Infections in Military Personnel. The Recovery of Echo 28 from Cases with Minor Respiratory Illness.
Acta Path. Microbio. Scand. Vol. 59 Fasc.4. 1963.

28.- MOGABGAB W.J., HOLMES B., 2060 and JH. Viruses in Secondary Monkey Kidney Cultures.
Jour. Infect. Diseases Jan-Feb. 1961.Vol.108 59-62.

29.- MOGABGAB W.J., 2060 Virus (Echo 28) in Kb. Cell. Cultures. Characteristics Complement-Fixation and Antigenic Relationships to some other Respiroviruses.
Amer. Jour. Hyg. Vol.76.No1.p.15-26. July 1962.

30.- MOGABGAB W.J. Additional respirovirus Type Related to GL. 2060 Virus, from Military Personnel. 1959.
Amer. Jour. Hyg. Vol.76.No2. p.160-172. Sept. 1962.

31.- MUFSON M.A., LUDWIG W.M., JAMES H.D., GAULD L.W., ROURKE J.A., HOLPER J.C., CHANOCK R.M. Effect of Neutralizing Antibody on Experimental Rhinovirus Infection.
Jour. Amer. Med. ass. Nov.9.1963. Vol.186. p. 578-584.

../..

32.- PARROTT R.H. Viral Respiratory Tract Illness in Children.
Bulletin of N.Y. Acad. Med. Oct. 1963.

33.- PARSONS R., TYRRELL D.A.J.
Nature. 189. 640.1961.

34.- PELON W. Classification of the 2060 Virus as Echo 28 and Further Study of its Properties.
Amer. Jour. Hyg. Vol.73. No1. p.36-54. JAN. 1961.

35.- PELON W., MOGABGAB W.J. Further Studies on the 2060 Virus.
Bact. Proc. 1958 p. 83.

36.- PELON W., MOGABGAB W.J., PIERCE W.E., PHILLIPS I.A. Cytopathogénic Agent Isolated from Recruits with Mild Respiratory Illnesses.

37.- PELON W., MOGABGAB W.J., PHILLIPS I.A., PIERCE W.E. Cytopathogenic Agent Isolated from Recruits with Mild Respiratory Illnesses.
Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 1957.94. 262-267.

38.- PEREIRA M.S., HAMBLING M.H., MAC DONALD J.C., ZUCKERMAN A.J., Viruses from the Common Cold : A. Survey in Royal Air Force Recruits on Arrival from Civilian Life.
Jour. Hyg. Camb. 1963. 61.471.

39.- PORTERFIELD J.S. Titration of some Common Cold Viruses (Rhinoviruses) and their Antisera By a Plaque Method.
Nat. Vol. 194. No 4833. P. 1044-1047. June 16 1962.

40.- POWELL H.M., WALCHER D.N., MAST C. Inhibition of Cytopatic Action of Salisbury Virus by Antiviral Agent 1758.
Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 1961. Vol. 107. p. 55.

41.- PRICE W.H. The Isolation of a New Virus Associated with Respiratory Clinacal Disease in Humans.
Proc. Nat. Acad. Sci. 1956. 42. 892-896.

42.- PRICE W.H., EMERSON H., IBLER I., LACHAINE R., TERRELL A. Studies of the J.H. and 2060 Viruses and Their Relationship to Mild Upper Respiratory Disease in Humans.
Amer. Jour. Hyg. Vol.69.No3. 224-249. May 1959.

43.- RAKE G.N., SHARMA R., WERNER G.H., Studies on the 2060-JH. Viruses.
Archiv Für Die Gesamte Virusforschung. B.XII.H.1.1962.p.58.

../..

44.- REED L.J., MUENCH H. .A simple méthod of Estimating Fifty per Cent End Points.
Amer. Jour. Hyg. 27. 493-497. 1938.

45.- REILLY C.M., HOCH S.M., STOKES J., MAC CLELLAND L., HAMPARIAN V.V., KETLER A., HILLEMAN M.R. Clinical and Laboratory Findings in Cases of Respiratory Illness caused by Coryzaviruses.
Arn. Int. Med. Vol. 57. No 4. Oct. 1962.

46.- SHARMA R., WERNER G.H. Studies on the 2060 JH Viruses.
Arc. Ges. Vir. B. XII. H.1. 1962 , p. 42.

47.- TAKEMOTO K.K., LIEBHABER H. Virus Polysaccharides Interactions.
Virology Vol. 14 N° 4 August 1961 p. 456-462; 499-501.

48.- TAMM I., EGGERS H.J. Differences in the Selective Virus Inhibitory Action of 2 -(α-Hydroxybenzyl)Benzimidazole and Guanidine H Cl.
Virology.18. 439.1962.

49.- TAYLOR-ROBINSON D., TYRRELL D.A.J. Serotypes of Viruses (Rhinoviruses) Isolated from Common Colds.
Lancet. March 3, 1962 p.452.

50.- TAYLOR-ROBINSON D., Studies on some Viruses (Rhinoviruses) isolated from Common Colds.
Arcu. F. Virus Fors. Bd. XIII H.1.3.281.

51.- TAYLOR-ROBINSON D., HUCKER R., TYRRELL D.A.J. Studies on the Pathogenicity For Tissue Culture of Some Viruses Isolated from Commun Colds.
Brit. Jour. Exp. Path. Vol. XLIII.No2. April 1962.

52.- TAYLOR-ROBINSON D., JOHNSON K.M., BLOOM H.H., PARROTT R.H., MUFSON M.A., CHANOCK R.M. Rhinovirus Neutralizing Antibody Responses and Their Measurements.
Amer. Jour. Hyg. Vol.78. No3. p. 285-292. Nov. 1963.

53.- TAYLOR-ROBINSON D., BYNOE M.L. Inoculation of Volunteers with H. Rhinoviruses.
Brit. Med. Jour. 29 Feb. 1964. Vol.1. p. 540-544.

../..

54.- TAYLOR ROBINSON D., BYNOE M.L.
J. Hyg. (Camb.) 61.407.1963.

55.- TYRRELL D.A.J., CHANOCK R.M. Rhinovirus. A Description.Science July 12 1963. Vol. 141.No3576. p. 152-

56.- TYRRELL D.A.J., BUCKLAND F.E., BYNOE M.L., HAYFLICK L. The Cultivation in Human Embryon Cells of a Virus D.C. causing Colds in Man.
Lancet. August. 18. 1962. p. 320-322.

57.- TYRRELL D.A.J., PARSONS R. Some Virus Isolations from Common Colds III. Cytopathic Effects in Tissue Culture.
Lancet 1960. I. p. 239. Jan. 30.1960.

58.- TYRRELL D.A.J., HITCHCOCK G., BYNOE M.L., PEREIRA H.G. Some Virus Isolations from Common Colds I. Experiments Employing Human Volunteers.
Lancet I. p. 235. JAN. 30.1960.

* *

*